



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES RECURSOS NATURALES**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA
SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO
DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)”.**

AUTOR:

LATACUNGA CUCHIPE NATALY MARGARITA

DIRECTOR:

DR. GUTIÉRREZ REINOSO MIGUEL ÁNGEL

LATACUNGA – ECUADOR

MARZO 2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

“Yo, **NATALY MARGARITA LATACUNGA CUCHIPE** declaro ser autora del presente Trabajo experimental: “**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)**”, siendo el **Dr. GUTIÉRREZ REINOSO MIGUEL ÁNGEL** tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature appears to read 'Nataly Latacunga'.

.....

NATALY MARGARITA LATACUNGA CUCHIPE

C.I. 050344397-0

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte Nataly Margarita Latacunga Cuchiye, identificada con C.C. N° 05034497-0, de estado civil soltera y con domicilio en San Felipe Barrio Brazales, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES:

CLÁUSULA PRIMERA. -EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado Proyecto Experimental, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – Septiembre 2012 - Marzo 2018.

Aprobación HCA. – Febrero 2018.

Tutor. – Dr. Gutiérrez Reinoso Miguel Ángel

Tema: “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)”

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. -El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

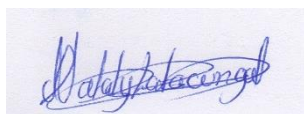
CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 2 días del mes de Marzo del 2018.



Srta. Nataly Margarita Latacunga Cuchipe

LA CEDENTE



Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

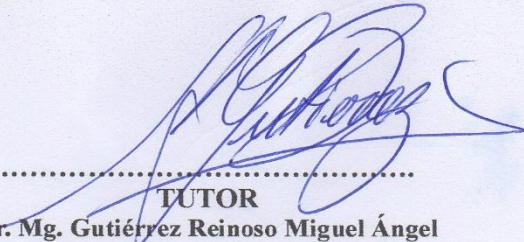
EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo Experimental sobre el tema:

“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)”, de **Latacunga Cuchipe Nataly Margarita**, de la carrera de **Medicina Veterinaria**, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Titulación que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

LATACUNGA, FEBRERO DEL 2018



.....
TUTOR
Dr. Mg. Gutiérrez Reinoso Miguel Ángel
CC: 050223662-3

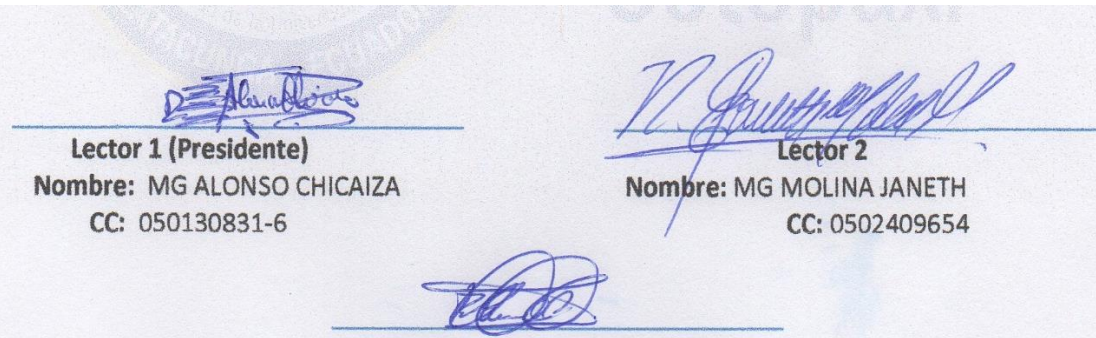
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Latacunga Cuchipe Nataly Margarita con el título de Trabajo experimental: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)”**, han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Trabajo experimental.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, Febrero 2018

Para constancia firman:



Lector 1 (Presidente)
Nombre: MG ALONSO CHICAIZA
CC: 050130831-6

Lector 2
Nombre: MG MOLINA JANETH
CC: 0502409654

Lector 3
Nombre: MG PINO EDWIN
CC: 050229598-3

AGRADECIMIENTO

El Amor es la Fuerza para Lograrlo Todo

A Dios, La Virgen María y al Niño Jesús; por estar conmigo siempre en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía toda mi vida.

A mis Padres Abraham Latacunga y María Elena Cuchipe; por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por su amor y apoyo incondicional perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mis Hermanos Nancy, Javier y Alex; por ser parte de mi vida, por la motivación y apoyo constante; pero más que nada, por su amor y bondad infinita.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi; por brindarme la oportunidad de estudiar y adquirir una formación académica excelente.

Un inmenso reconocimiento merece por el interés mostrado en mi trabajo y las sugerencias recibidas del Dr. Miguel Gutiérrez Reinoso, Mg., con el que me encuentro en deuda por la confianza y el ánimo de seguir creciendo cada día. Además, un especial e infinito agradecimiento al Dr. Diego Medina Valarezo, a la Dra. Janeth Corrales, Dra. Magaly Corrales y a la Dra. Nicole Rubio por su apoyo y colaboración incondicional.

A los lectores de mi proyecto experimental a la Dra. Janeth Molina, Mg., Dr. Edwin Pino Panchi, Mg., y Dr. Alonso Chicaíza Sánchez, Mg. de corazón muchas gracias.

Nataly Margarita Latacunga Cuchipe

DEDICATORIA

Con todo mi amor y gratitud a Dios por brindarme la oportunidad y la dicha de la vida; a mis Padres amados y a mis Hermanos queridos por ofrecerme constantemente su apoyo incondicional, y confianza, convirtiéndose en la mayor fuente de inspiración; infundiéndome perseverancia y anhelos de superación para culminar mi investigación y sobre todo para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano en todo momento a pesar de las adversidades.

Nataly Margarita Latacunga Cuchi



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

AUTOR: Latacunga Cuchipe Nataly Margarita

1.- INFORMACIÓN GENERAL

TITULO: “EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)”.

2.- RESUMEN

Las investigaciones con los animales siempre han sido encaminadas a la producción animal para consumo humano. Sin embargo, el presente trabajo se realiza para promover investigación en temas relacionados con nuevos tratamientos biomédicos en animales de compañía; explorables en medicina humana. El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto del Filgrastim® (r-Met- Hu-G- CSF) en relación a los valores hematológicos (serie roja y serie blanca) y su incidencia en los parámetros de la calidad seminal (motilidad, volumen y concentración espermática) del canino doméstico. Se trabajó con 10 caninos, 5 animales distribuidos en el grupo control y 5 animales en el grupo de tratamiento, de una edad de 6 meses a 1 año, de tamaño mediano y sexo macho, a los que se les aplicó a una dosis de 5mcg cada 24 horas por 4 días consecutivos vía subcutánea; además se tomaron muestras de sangre antes y después de cada aplicación para valoración hemática y hormonal (testosterona), así como muestras de semen para valoración de los parámetros seminales motilidad, y concentración espermática. Para el análisis estadístico se empleó la prueba T students para dos muestras emparentadas y desiguales. Por tanto, se concluye que en el presente estudio la obtención de células madres hematopoyéticas en el canino doméstico en relación la serie blanca fue satisfactorio, observando que la mayor movilización de células madres (inmaduras) se presentó en los tratamientos T1 respecto al grupo control y su incidencia en la calidad seminal. Así, los índices de los parámetros de la serie blanca (leucocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos) presentaron cambios numéricos significativos en contraste con el grupo control. Mientras que los valores de la serie roja (eritrocitos y plaquetaria) no mostraron cambios significativos en los valores numéricos, determinando una correlación positiva y negativa

entre ambas series, además hubo influencia directa del Filgrastim® (5mcg/kg), mejorando la motilidad y concentración espermática en el canino doméstico.

Palabras claves: canino doméstico, filgrastim, biometría hemática, testosterona, calidad seminal.



TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

AUTHOR: Latacunga Cuchipe Nataly Margarita

TITLE: "EVALUATION OF THE FILGRASTIM EFFECT IN RELATION TO THE RED SERIES AND WHITE SERIES IN THE SEMINAL QUALITY IN THE DOMESTIC CANINE (CANIS FAMILIARIS)".

SUMMARY

Animal research has always been directed at animal production for human consumption. However, the present study is carried out to promote research on topics related to new biomedical treatments in pets; explorable in human medicine. The principal purpose of this study was to analyze the effect of Filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF) in relation to the hematological values (red series and white series) and its incidence in the parameters of seminal quality (motility, volume and sperm concentration) of the domestic canine. The researchers worked with 10 canines, 5 animals distributed in the control group and 5 animals in the treatment group, from an age of 6 months to 1 year, of medium size and male sex which were applied at a dose of 5mcg each 24 hours for 4 consecutive days subcutaneously; In addition, blood samples were taken before and after each application for blood and hormonal assessment (testosterone), as well as semen samples for evaluation of seminal motility parameters, and sperm concentration. For the statistical analysis, the T students test was used for two related and unequal samples. Therefore, it is concluded that in this study the obtaining of hematopoietic stem cells in the domestic canine related to the white series was satisfactory, observing that the greater mobilization of stem cells (immature) was presented in the T1 treatments regarding the control group and its impact on seminal quality. Consequently, the indices of the parameters of the white series (leukocytes, lymphocytes, monocytes and granulocytes) presented significant numerical changes in contrast to the control group. While the values of the red series (erythrocytes and platelets) did not show significant changes in the numerical values, determining a positive and negative correlation between both series, there was also direct influence of Filgrastim® (5mcg / kg), improving the motility and concentration sperm in the domestic canine.

Key words: domestic canine, filgrastim, hematic biometrics, testosterone, seminal quality.

ÍNDICE DE PRELIMINARES

PORTADA.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN	vii
AGRADECIMIENTO	viii
DEDICATORIA	ix
1.- INFORMACIÓN GENERAL	x
2.- RESUMEN	x
SUMMARY	xii
ÍNDICE DE PRELIMINARES.....	xiv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	xv
ÍNDICE DE TABLAS.....	xvii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xxi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xxii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xxii

ÍNDICE DE CONTENIDOS

3.- INTRODUCCIÓN	1
4.- OBJETIVOS	1
5.- FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	2
5.1 CANINO DOMÉSTICO (Canis familiaris).....	2
5.2. REPRODUCCIÓN.....	4
5.2.1. Aparato reproductor del canino.....	4
5.2.2. Características	4
▪ Testículos:	4
▪ Escroto:	5
▪ Epidídimo:.....	5
▪ Conducto deferente	5
▪ Próstata:.....	5
▪ Uretra:	5
▪ Pene:.....	5
▪ Prepucio:	5
5.2.3. Fisiología de los espermatozoides.....	6
5.2.4. Endocrinología del macho	6
5.2.5 Espermatogénesis	9
5.2.5.1 Espermatogénesis.....	9
5.2.5.2 Proceso de maduración del espermatozoide	11
5.2.5.3 Esquema de la espermatogénesis:	11
5.2.6 Testosterona	12
5.2.6.1 Mecanismo de acción de la testosterona	12
5.3. Extracción de semen en caninos	13
5.3.1. Evaluación del semen.....	14
5.3.2. Evaluación macroscópica.....	15
a) Volumen. -	15
b) Color. -	15
5.3.3. Evaluación microscópica	15
a) Motilidad.....	15
b) Morfología.	15

c) Concentración espermática.....	16
5.4. CÉLULAS MADRE	16
5.4.1. Definición.....	16
5.4.2. CLASIFICACIÓN	17
5.4.2.1. Potencial de diferenciación	17
5.4.2.1.1. Células madre totipotentes	17
5.4.2.1.2. Células madre pluripotentes	17
5.4.2.1.3. Células madre multipotentes	17
5.4.2.1.4. Células madre unipotentes	17
5.4.2.2. Según el origen.....	18
5.4.2.2.1. Células madre embrionarias	18
5.4.2.2.2. Células madre fetales	18
5.4.2.2.3. Células madre adultas	18
5.4.2.2.4. Células madre germinales	18
5.4.2.2.5. Células madre hematopoyéticas	18
5.5.1. SISTEMA HEMATOPOYETICO.....	19
5.5.1.1. Hematopoyesis	19
5.5.1.2. Mielopoyesis	20
5.5.1.2.1. Eritropoyesis	20
5.5.1.2.2. Eritrocitos.....	21
5.5.1.2.3. Granulomonopoyesis	21
5.5.1.2.4. Neutrófilos	23
5.5.1.2.5. Eosinófilos	23
5.5.1.2.6. Basófilos	23
5.5.1.2.7. Monocitos	23
5.5.1.2.8. Megacariopoyesis.....	24
5.5.1.2.9. Plaquetas	24
5.5.1.3. Linfopoyesis.....	24
5.5.1.3.1. Linfocitos	25
5.5.1.4 BIOMETRÍA HEMÁTICA (BH)	25
5.5.1.4.1 Componentes hemáticos del perro	26
5.6. FILGRASTIM.....	27
5.6.1. Composición	28
5.6.2. Mecanismo de acción.....	28

5.6.3. Farmacocinética	29
6.- VALIDACIÓN DE LAS HIPOTESIS	30
HIPOTESIS AFIRMATIVA HI	30
HIPOTESIS NULA HO	30
7.- MATERIALES	30
7.1. Recurso Humanos	30
7.2. Materiales De Oficina	30
7.3. Materiales de campo	31
7.4. Materiales de laboratorio.....	31
7.5. Insumos	32
8.- PROCEDIMIENTO/MÉTODO	32
8.1. Métodos.....	32
8.1.1. Inductivo	32
8.1.2. Experimental	32
8.2. Procedimiento	32
8.3. Técnicas.....	34
8.3.1. Observación directa.....	34
8.3.2. Observación de campo	34
9.- RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	35
9.1. Dosis de Filgrastim	35
10.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	69
11.- CONCLUSIONES	71
12. RECOMENDACIONES	71
13.- BIBLIOGRAFÍA	72
14.- ANEXOS	76;Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA N.- 1 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los leucocitos-WBC/ul– pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.....	36
TABLA N.- 2 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los leucocitos-WBC/ul– post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.....	36

TABLA N.- 3 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los leucocitos-WBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y pos aplicación de filgrastim día 55.....	37
TABLA N.- 4 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.....	37
TABLA N.- 5 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.	38
TABLA N.- 6 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.....	39
TABLA N.- 7 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los monocitos-Mid#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.....	39
TABLA N.- 8 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los monocitos-Mid#/ul-post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.....	40
TABLA N.- 9 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los monocitos-Mid#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.....	41
TABLA N.- 10 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los granulocitos- Gran#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.....	41
TABLA N.- 11 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los granulocitos- Gran#/ul- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.	42
TABLA N.- 12 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los granulocitos- Gran#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.....	42
TABLA N.- 13 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los eritrocitos- RBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.....	43
TABLA N.- 14 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los eritrocitos- RBC/ul- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.....	43
TABLA N.- 15 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los eritrocitos- RBC/ul-pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.....	44
TABLA N.- 16 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los leucocitos-WBC/ul- día 1 y día 6.	45

TABLA N.- 17 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los leucocitos-WBC/ul- día 6 y día 55.....	45
TABLA N.- 18 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los leucocitos-WBC/ul- día 1 y día 55.....	45
TABLA N.- 19 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- día 1 y día 6.....	46
TABLA N.- 20 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- día 6 y día 55.....	46
TABLA N.- 21 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- día 1 y día 55.....	47
TABLA N.- 22 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los monocitos- Mid#/ul- día 1 y día 6.....	47
TABLA N.- 23 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los monocitos- Mid#/ul- día 6 y día 55.....	47
TABLA N.- 24 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los monocitos- Mid#/ul- día 1 y día 55.....	48
TABLA N.- 25 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- día 1 y día 6.....	48
TABLA N.- 26 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- día 6 y día 55.....	49
TABLA N.- 27 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- día 1 y día 55.....	49
TABLA N.- 28 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- día 1 y día 6.....	50
TABLA N.- 29 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- día 6 y día 55.....	50
TABLA N.- 30 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- día 1 y día 55.....	50
TABLA N.- 31 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los leucocitos- WBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.....	51
TABLA N.- 32 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los leucocitos- WBC/ul- post aplicación de filgrastim día 6.....	52
TABLA N.- 33 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los leucocitos- WBC/ul- post aplicación de filgrastim día 55.....	52
TABLA N.- 34 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los linfocitos-Lymph#/u- pre aplicación de filgrastim día 1.....	52

TABLA N.- 35 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los linfocitos-Lymph#/u- post aplicación de filgrastim día 6.....	53
TABLA N.- 36 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los linfocitos-Lymph#/u- post aplicación de filgrastim día 55.....	54
TABLA N.- 37 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los monocitos- Mid#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.....	54
TABLA N.- 38 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los monocitos- Mid#/ul- post aplicación de filgrastim día 6.....	55
TABLA N.- 39 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los monocitos- Mid#/ul- post aplicación de filgrastim día 55.....	55
TABLA N.- 40 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.....	56
TABLA N.- 41 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- post aplicación de filgrastim día 6.....	56
TABLA N.- 42 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- post aplicación de filgrastim día 55.....	57
TABLA N.- 43 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.....	57
TABLA N.- 44 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- post aplicación de filgrastim día 6.....	58
TABLA N.- 45 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- post aplicación de filgrastim día 55.....	58
TABLA N.- 46 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.....	59
TABLA N.- 47 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.....	60

TABLA N.- 48 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.....	60
TABLA N.- 49 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- día 1 y día 6.	61
TABLA N.- 50 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- día 6 y día 55.	61
TABLA N.- 51 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- día 1 y día 55.	62
TABLA N.- 52 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento y control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- pre aplicación de filgrastim día 1.	62
TABLA N.- 53 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento y control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- post aplicación de filgrastim día 6.	63
Cuadro N°- 11 Análisis de motilidad espermática pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento y grupo control).	64
TABLA N.- 55 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a la motilidad seminal- %- pre aplicación de filgrastim día 1.....	65
TABLA N.- 56 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a la motilidad seminal- %- post aplicación de filgrastim día 6.....	65
TABLA N.- 57 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a la motilidad seminal- %- post aplicación de filgrastim día 55.....	66
TABLA N.- 58 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto al volumen seminal- ml- pre aplicación de filgrastim día 1.....	67
TABLA N.- 59 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto al volumen seminal- ml- post aplicación de filgrastim día 6.....	68
TABLA N.- 60 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto al volumen seminal- ml- post aplicación de filgrastim día 55.....	68

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL CANINO DOMÉSTICO	2
CUADRO 2.- CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DEL CANINO	3
CUADRO 3.- FUNCIONES DE LAS HORMONAS EN LOS CANINOS.....	7

CUADRO 4.- VALORES DE REFERENCIA DE TESTOSTERONA EN CANINOS	12
CUADRO 5.- VALORES HEMATOLÓGICOS DEL CANINO	26
CUADRO 6.- EL G-CSF VIENE EN PRESENTACIONES COMO: FRASCO AMPOLLA O JERINGA PRELLENADA.....	28
Cuadro N°- 7 Biometrías Hemáticas pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento).....	35
GRUPO TRATAMIENTO DIA 1	35
Cuadro N°- 8 Biometrías Hemáticas día 1 (grupo control).....	44
Cuadro N°- 9 Análisis hormonales (testosterona) pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento).	59
GRUPO CONTROL	61
Cuadro N°- 10 Análisis hormonales (testosterona) pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Control).	61

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO 1.- ESQUEMA DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-TESTÍCULOS.	7
GRAFICO 2.- ESPERMATOGENESIS.....	10
GRAFICO 3.- PROCESO DE ESPERMATOGENESIS	11
GRAFICO 4.- FASES DE LA ESPERMATOGENESIS	12
GRÁFICO 5. ESQUEMA DEL PROCESO DE FORMACIÓN DE LA SANGRE	19
GRÁFICO 6. ETAPAS DE LA ERITROPOYESIS.....	21
GRÁFICO 7. GRANULOPOYESIS	22

ÍNDICE DE ANEXOS.

ANEXO 1.- AVAL DE TRADUCCIÓN.....	¡Error! Marcador no definido.
ANEXO 2.- BIOMETRÍAS HEMÁTICAS.....	77
ANEXO 3 .- ANALISIS HORMONALES (TESTOSTERONA).....	80
ANEXO 4.- ANÁLISIS DE LOS PARÁMETROS SEMINALES MACRO Y MICROSCOPICOS	81
ANEXO 5.- MORFOMETRÍA TESTICULAR	86
ANEXO 6.- CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	86
ANEXO 7. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL.....	88
ANEXO N. 8 HOJA DE VIDA DE TUTOR DE TITULACIÓN.....	91
ANEXO N. 9 HOJA DE VIDA DEL AUTOR DEL PROYECTO.....	92

3.- INTRODUCCIÓN

En algunos países se ha utilizado el filgrastim ya que es el estimulante de órganos hematopoyéticos, una citoquina producida usualmente en el organismo, ha sido empleada en su forma análoga para los diferentes tratamientos sobre todo de enfermedades inmunosupresoras que se utilizan tanto en medicina humana como en medicina veterinaria. Utilizados en aquellos pacientes positivos al virus de leucemia felina y al virus de inmunodeficiencia felina y para su funcionamiento se valora el estado general del paciente junto con una toma de muestra para realizar hemograma diferenciado y el conteo de neutrófilos. Se ha utilizado muy frecuentemente en pacientes con infección por el VIH y ha resultado eficaz para disminuir las infecciones producidas por las bacterias en pacientes por el VIH y neutropenia, también mejora la supervivencia de los pacientes con rinitis por citomegalovirus. También para el tratamiento contra el parvovirus en caninos ya que se recomienda como medida auxiliar para contrarrestar los efectos de la aparición de infecciones secundarias causadas por bacterias por la baja de inmunidad que provoca este virus en el paciente.

Además, la presente investigación pretende valorar y determinar los niveles de estimulación de órganos hematopoyéticas (serie roja y serie blanca) y en la calidad seminal en el canino doméstico. Los resultados que se obtienen dentro de éste estudio permiten tener un procedimiento terapéutico alternativo en patologías de interés veterinario y zootécnico, de ésta forma minimizar el uso indiscriminado de fármacos y buscando siempre el bienestar animal.

4.- OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluación del efecto del filgrastim en relación a los valores hematológicos (serie roja y serie blanca) para determinar su incidencia en los parámetros de la calidad seminal del canino doméstico.

Objetivos específicos

- Aplicar filgrastim a dosis de 5 mcg en caninos domésticos mestizos.

- Determinar valores hemáticos de la serie roja y serie blanca pre y post aplicación del filgrastim en el canino doméstico.
- Evaluar los parámetros seminales pre y post aplicación del filgrastim en el canino doméstico.

5.- FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

5.1 CANINO DOMÉSTICO (*Canis familiaris*)

Todas las razas de caninos descienden de los lobos de Asia y no de otros caninos salvajes. Lobos y perros, pertenecen al género *canis* de la gran familia *canidae*. Los primeros miembros de la familia *canidae*, origen de hace unos 300 millones de años y los perros surgieron de la evolución del lobo, lo cual se supone que comenzó hace 20.000 a 30.000 años. (Fariña, 2002)

El canino (clasificación científica “*canis familiaris*”) ha sido reconocido desde siempre como “el mejor amigo” del hombre. Esta relación, establecida desde el principio de todo, ha evolucionado hasta convertirse en nuevas formas de interacción hombre-canino, que son origen de grandes beneficios para la sociedad. (System, 2016)

Tradicionalmente, el canino ha ayudado al hombre en tareas tales como la caza, la vigilancia y como ayuda invaluable en el pastoreo de ganado. Sin embargo, en la medida en que la sociedad ha evolucionado desde pequeñas comunidades agrícolas, a cada vez mayores áreas metropolitanas, el rol del perro ha cambiado. (System, 2016)

CUADRO 1.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL CANINO DOMÉSTICO

Reino:	Animalia
Filo:	Chordata
Subfilo:	Vertebrata
Clase:	Mammalia
Subclase:	Theria

Infraclase:	Eutheria
Orden:	Carnívora
Suborden:	Caniformia
Familia:	Canidae
Genero:	Canis
Especie:	Canis lupus
Subespecie:	Canis lupus familiaris

Fuente: (Jorge Álvarez Romero y Rodrigo A. Medellín Legorreta, 2005)

CUADRO 2.- CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DEL CANINO

Edad media	8 - 16 años (mayor en razas pequeñas que en grandes).
Dieta alimentaria	Carnívoro no estricto.
Necesidades energéticas	Entre 130 y 3.500 Kcal/día.
Temperatura corporal	38.5 - 39.5 °C (los cachorros y perros que acaban de realizar ejercicio pueden tener algunas décimas más).
Frecuencia respiratoria	20 - 40 respiraciones / minuto
Frecuencia cardíaca	70 - 180 latidos / minuto y hasta 220 en cachorros (en general es mayor en cachorros y perros de pequeño tamaño que en adultos y perros grandes)
Duración del crecimiento	Razas pequeñas: hasta los 10 meses Razas medianas: hasta los 12 meses Razas grandes: hasta los 15 meses

Período de vejez	Razas pequeñas: desde los 8 años Razas medianas: desde los 7 años Razas grandes: desde los 5 años
Madurez sexual	Entre los 8 y 12 meses (antes en razas pequeñas)
Intervalo entre celos en la perra	6 meses con variación de 1 a 15 días
Duración de la gestación	58 a 62 días
Destete	A los 30 o 45 días

Fuente: <http://www.mascotasderaza.com/nota/388/caracteristicas-generales-de-los-perros>

5.2. REPRODUCCIÓN

5.2.1. Aparato reproductor del canino

Lo constituyen una serie de estructuras cuya misión es producir las células reproductoras masculinas (espermatozoides) y las hormonas responsables de los caracteres masculinos y la formación del semen y su posterior eyaculación. (Bernabé, Navarro y Pallarés, 2009)

El sistema reproductor masculino consta de tres componentes:

- a) Órganos sexuales primarios o gónadas: los testículos.
- b) Órganos sexuales accesorios: epidídimo, conducto deferente, glándulas vesiculares, próstata y glándulas bulbouretrales.
- c) Órgano copulador: pene.

5.2.2. Características

- **Testículos:** son dos, de forma elipsoidal, y alojados en el escroto. Están conformados por túbulos seminíferos, que es donde se originan los espermatozoides. Función: al igual que los ovarios en las hembras, tienen una función exocrina de producción y maduración de espermatozoides, y otra

endocrina de producción de hormonas. El rango de testículos en los caninos es de aproximadamente de 1-5cm de longitud por 1-3cm de diámetro. (Nelson, 2007)

- **Escroto:** la bolsa o conjunto de vainas que conforman el escroto tienen la misión de proteger las gónadas masculinas (testículos) y de mantenerlos a una temperatura homogénea inferior al corporal en unos 2°C para no afectar a la espermatogénesis (producción de espermatozoides) y proteger el parénquima testicular. (Tapia, 2014)
- **Epidídimo:** es un largo tubo que almacena y transporta los espermatozoides. Se divide en cabeza, cuerpo y cola. Ésta se transforma gradualmente en el conducto deferente. Función: almacenamiento, transporte y maduración espermática.
- **Conducto deferente:** tiene su origen en la cola del epidídimo y asciende como un componente del cordón espermático, entrando a la cavidad abdominal a través del canal inguinal. Función: transporte de espermatozoides. (López, 2010)
- **Próstata:** es una glándula que rodea el cuello de la vejiga y el comienzo de la uretra. Es un órgano aplanado dorsalmente y redondeado central y lateralmente. Está contenido dentro de una cápsula y un tabique longitudinal lo divide en dos lóbulos, derecho e izquierdo. Función: producir el plasma seminal que ayuda a transportar y nutre a los espermatozoides. (Rosa, 2000)
- **Uretra:** tiene una primera parte que transcurre por la región pélvica, que es la uretra pelviana y la que sigue por el pene que es la uretra peneana o esponjosa. Función: transporte de orina desde la vejiga y el transporte de los espermatozoides y del líquido prostático en el eyaculado. (Valera, 2005)
- **Pene:** se divide en raíz, cuerpo y glande. En estado de flacidez el pene se encuentra totalmente dentro del prepucio. En el interior del pene hay un hueso, el os penis o hueso peneano, que es una estructura alargada con un surco ventral que aloja a la uretra peneana. Este hueso ayuda en la penetración al mantener erecto el pene antes de la erección propiamente dicha. Función: el pene en erección es el órgano que permite la penetración y el abotonamiento durante la cópula. (López, 2010)
- **Prepucio:** es una vaina tubular que se origina y es continuación de la piel del abdomen, y que recubre el pene flácido en su totalidad. Posee una mucosa interna lisa y una capa de piel externa cubierta de pelos que confluyen en el orificio

prepuccial. Segrega un líquido verdoso denominado esmegma que lubrica el pene. (Valera, 2005)

5.2.3. Fisiología de los espermatozoides

El proceso fisiológico de producir espermatozoides (espermatogénesis) está muy relacionada con la producción de hormonas esteroideas (esteroidogénesis), los andrógenos y el estradiol, pero se realizan en diferentes áreas del testículo. La espermatogénesis tiene lugar en los compartimientos localizados dentro de los túbulos seminíferos a través de las células de Sertoli, en ellos se encuentran en la parte basal células germinales en etapa de espermatogonias en división mitótica, mientras que en la sección adluminal de los túbulos contiene espermatoцитos primarios en división meiótica que darán lugar a espermatoцитos secundarios y espermátidas. (Pastrana, 2012)

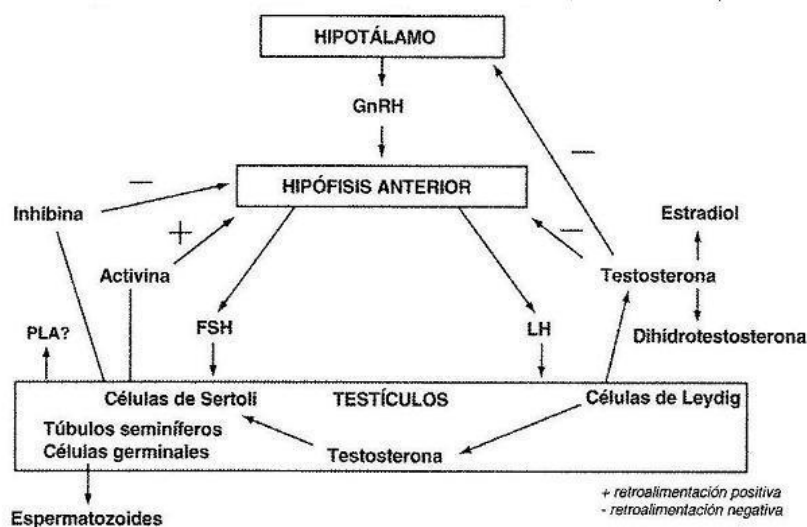
La síntesis de hormonas esteroideas, se produce en el compartimento de tejido intersticial formados por células de Leydig en el testículo. Estas células, influenciadas por la acción de la LH, producen entre otras hormonas de tipo esteroide la testosterona, hormona esencial para el desarrollo de las características sexuales secundarias, comportamiento normal, función de las glándulas accesorias, producción de espermatozoides y el mantenimiento del sistema masculino de los conductos. (Mellisho, 2010)

5.2.4. Endocrinología del macho

La fisiología reproductiva del perro se controla a través del sistema endocrino por medio de la secreción y acción de dos hormonas gonadotrópicas, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), ambas secretadas por la hipófisis anterior, gracias a un mecanismo de acción positiva de hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH) las cuales son secretadas de forma episódica desde el hipotálamo, de tal manera que la adenohipófisis al recibir esos estímulos, se unen a receptores específicos en las membranas plasmáticas de las células gonadotropas liberando LH (GnRHLH) y FSH. (GnRHFSH). (Paramo, 2008)

De igual manera la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) está sometida a un control negativo de la testosterona, dihidrotestosterona y el estradiol, en la que intervienen de manera sincronizada el hipotálamo – hipófisis - testículos. (Affinity, 1987)

GRAFICO 1.- ESQUEMA DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-TESTÍCULOS.



Fuente: (Crianza Canina 2017) <http://www.crianzacanina.com/articulo.asp?id=546>

CUADRO 3.- FUNCIONES DE LAS HORMONAS EN LOS CANINOS

Hormona	Lugar de liberación	Función
GnRH	Hipotálamo	Liberación de FSH y LH por la hipófisis anterior
LH	Hipófisis anterior	Actúa en las células de Leydig para estimular la síntesis de andrógenos-estradiol
FSH	Hipófisis anterior	Actúa en las células de sertoli para estimular la espermatogénesis
Testosterona	Células de Leydig	Actúa en las células de sertoli para estimular la espermatogénesis, en la retroalimentación negativa en el hipotálamo e hipófisis

		anterior para el control de la liberación de GnRH y gonadotropinas
Inhibina	Células de Sertoli	Retroalimentación negativa en la hipófisis anterior para el control de la liberación de FSH
Activina	Células de Sertoli	Retroalimentación positiva en la hipófisis anterior para el control de la liberación de FSH
Prolactina	Células de Leydig	Regula la producción de testosterona
Proteína liberadora de andrógenos (ABP)	Células de Sertoli	Aumenta la testosterona en los túbulos seminíferos o en el epidídimo

Fuente: (Gonzalez, 2014)

La producción de espermatozoides está influenciada por la acción de la FSH sobre las células de Sertoli y controlada (feed back negativo de FSH) por la hormona inhibina y la producción de testosterona por la LH y de manera sinérgica de la prolactina actuando sobre las células de Leydig y controlada por la proteína ligadora de andrógenos (ABP) que se sintetiza en las células de Sertoli. Para que las células de Sertoli funcionen normalmente en la producción de gametos, requieren que las concentraciones de testosterona sean considerablemente más elevadas a nivel local en el testículo que lo que se requiere para el mantenimiento de las características sexuales secundarias, comportamiento sexual etc. que es a nivel periférico o general. (Canina, 2007)

La pubertad aparece comúnmente en el perro entre los 6 y 18 meses de edad y es más temprana en razas pequeñas que en grandes (Manteca, 2008).

5.2.5 Espermatogénesis

La testosterona estimula el desarrollo de las glándulas accesorias, produciendo líquido seminal para la vehiculización del semen. La FSH y LH actúan sobre las células de Leydig y producen testosterona, esta actúa sobre las células de Sertoli produciendo:

- a) Una proteína que se une a los andrógenos y acusa un aumento en la producción de testosterona en el testículo, esto se puede comprobar pues en caso de tumores testiculares esta proteína no se produce y se da el síndrome de feminización. (López, 2014)

5.2.5.1 Espermatogénesis

Los espermatozoides se forman en los tubos seminíferos, se desarrollan a partir de las espermatogonias del epitelio germinal que esta sobre el borde externo de los túbulos; se realiza una serie de divisiones celulares hacia la luz del tubo, se va modificando el aspecto y los caracteres de la célula hasta que finalmente son liberadas a la luz. Tras un período de fijación a las células nodrizas, los espermatozoides llegan a ser independientes y pasan a lo largo de los tubos hacia los conductos colectores. (Filipiak, 2016)

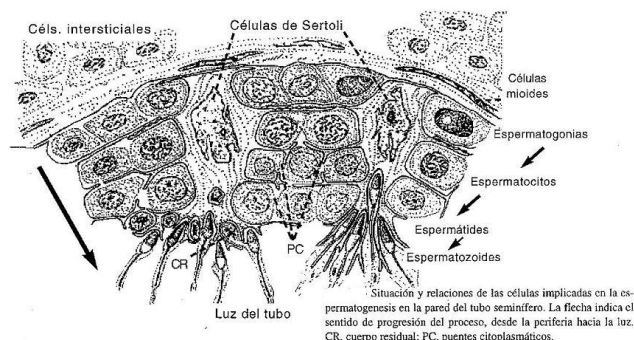
- Fase de multiplicación: en los testículos se hallan las células precursoras de los gametos masculinos, llamadas células germinales (diploides). Estas células, cuando llega la pubertad, se comienzan a dividir por mitosis y dan lugar a las espermatogonias (diploides).
- Fase de crecimiento: las espermatogonias aumentan de tamaño y dan lugar a espermatoцитos de primer orden (diploides). (Ramirez, 2011)
- Fase de maduración: los espermatoцитos de primer orden sufren la primera división meiótica y producen dos espermatoцитos de segundo orden (haploides), Estos sufren la segunda meiosis y producen cuatro espermátidas, con una sola cromátida.
- Fase de diferenciación: las espermátidas dan lugar a espermatozoides mediante un proceso de diferenciación celular, que implica la aparición de flagelo. (Miguélez, 2004)

Espermatogénesis:

- Fase proliferativa: multiplicación y renovación espermatogonial. Los espermatozoides mediante divisiones mitóticas originan espermatogonias y éstas dan origen a los espermatocitos primarios.
- Fase reduccional: los espermatocitos primarios sufren una primera meiosis dando origen a los espermatocitos secundarios los cuales a través de una segunda meiosis dan origen a las espermatidas.
- Fase de Golgi: hay formación de los gránulos pro - acrosomicos, estos se unifican y se unen a la membrana nuclear; hay inicio del desarrollo del axonema.
- Fase del capuchón: se da la diseminación del granulo acrosomico y crecimiento del axonema, se forman los dos microtubulos centrales de la cola.
- Fase del acrosoma: se da la condensación de la cromatina, elongación del núcleo. El acrosoma se condensa y se alarga. Se forman 9 dupletos que rodean los 2 microtubulos centrales.
- Fase de maduración: desaparece el granulo acrosomico; el núcleo se aplana, se forma el cilindro de mitocondrias de la cola; se forma el cuerpo residual. (Plata, 2012)

Las células del epitelio germinal (células de sertoli) presentes en los tubos seminíferos de los testículos son las encargadas de producir las nuevas células germinales.

GRAFICO 2.- ESPERMATOGENESIS

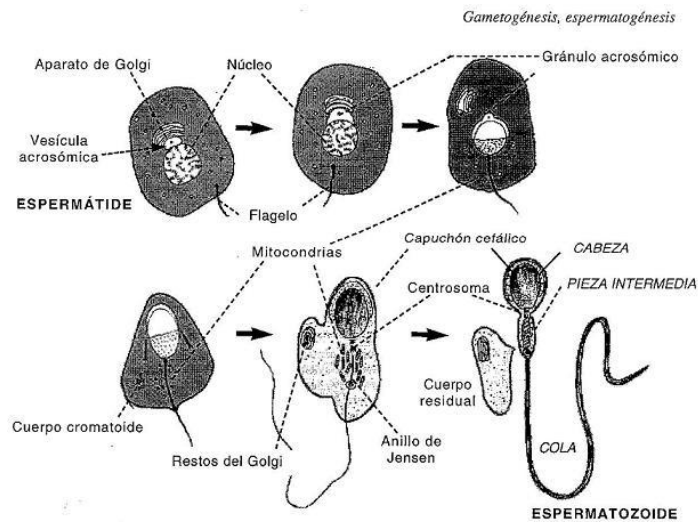


Fuente: <http://www.crianzacanina.com/articulo.asp?id=70>

El proceso se inicia primero con las llamadas células madre, de estas células a su vez se producen dos células llamadas espermatogonias A, una de ellas permanece en reposo y la otra se divide por mitosis en espermatogonias intermedias y posteriormente en

espermatogonias B, para después por división meiótica convertirse en células germinales haploides llamadas espermatocitos primarios los cuales se dividen en espermatocitos secundarios y por medio de una segunda división meiótica se producen las espermátidas y mientras estas maduran para convertirse finalmente en espermatozoides. (Gonzales, 2014)

GRAFICO 3.- PROCESO DE ESPERMATOGÉNESIS



Fuente: <http://www.crianzacanina.com/articulo.asp?id=70>

5.2.5.2 Proceso de maduración del espermatozoide

La otra espermatogonia A que quedó en reposo ya ha iniciado el mismo proceso que su hermana, para que así se asegure la producción, división y maduración de más células madre en espermatozoides. En promedio un perro produce entre 200 millones a 1,000 millones de espermatozoides por eyaculado por lo que el proceso de la espermatogénesis se realiza de manera continua y sin detenerse. (Restrepo, 2009)

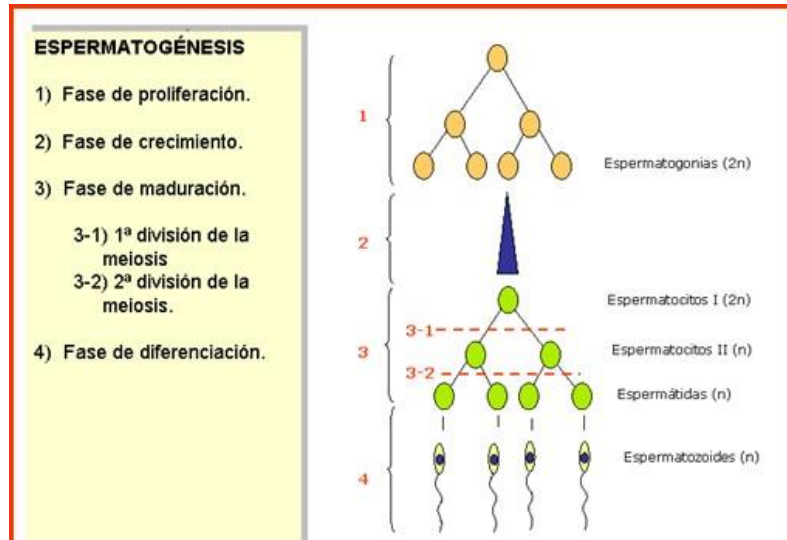
5.2.5.3 Esquema de la espermatogénesis:

- Espermatocitogénesis: primera etapa del desarrollo del espermatozoide, en la cual se desarrolla la espermatogonia, llegando a espermatocitos y más tarde a espermátidas.
- Espermatogénesis: proceso de formación del espermatozoide, que incluye la espermatocitogénesis y la espermiogénesis.
- Espermiogénesis: fase de la formación del espermatozoide, durante la cual las espermátidas se transforman en espermatozoide.

- Espermatozoide: célula germinal masculina madura.

La producción de gametos o de ciclos espermáticos en el perro es constante y no se puede acelerar y tiene una duración de 55 - 70 días aproximadamente. (Feldman, 2007)

GRAFICO 4.- FASES DE LA ESPERMATOGENESIS



Fuente: (Mora Guzmán) <http://slideplayer.es/slide/10390262/>

5.2.6 Testosterona

5.2.6.1 Mecanismo de acción de la testosterona

Es producida principalmente por los testículos, aunque las hembras también la producen, pero en menor cantidad, y es regulada a través de la retroalimentación hormonal que requiere señales del hipotálamo y de la glándula pituitaria. Es una hormona esteroidea que se sintetiza a partir del colesterol, en los testículos y las glándulas adrenales. (Justel, 2010)

CUADRO 4.- VALORES DE REFERENCIA DE TESTOSTERONA EN CANINOS

MACHO ENTERO	0.5 - 10 ng/ml
MACHO CASTRADO	< 0.2 ng/ml
HEMBRA (ANEXTRO)	< 0.5 ng/ml

Fuente: (Juatel, 2010)

La medición de testosterona es útil para determinar la madurez sexual (pubertad) en el macho, condiciones de criptorquidismo y tumores ováricos (Nachreiner, 1986; Hafez & Hafez, 2000). En el caso de la pubertad, las gonadotropinas estimulan cambios en las células intersticiales del testículo promoviendo la síntesis y secreción de testosterona. Previo a la pubertad, en el macho, como también en las hembras, y machos castrados, las concentraciones séricas de testosterona es bastante baja (Hafez & Hafez, 2000). Por lo tanto, en machos un aumento significativo de esta hormona puede ser usado como indicativo de inicio de la pubertad. En relación con el criptorquidismo se puede decir que en ciertas especies esta condición ocurre con relativa frecuencia.

Para todas las muestras sanguíneas, es una buena práctica separar el suero o plasma de la sangre total tan pronto como sea posible. Esto minimiza el riesgo de hemólisis. La hemólisis no afecta los niveles sanguíneos de iodotironinas, cortisol, estradiol o testosterona en muestras provenientes de perros y otros animales domésticos. (Rohloff, 2015)

5.3. Extracción de semen en caninos

Se debe tomar en cuenta estas condiciones que favorecen la extracción y permitirá la obtención de un semen de calidad.

- Lugar donde se realizará la recolección: debe ser un lugar tranquilo para evitar que el semental se ponga nervioso o se distraiga.
- Se debe evitar que el perro orine inmediatamente antes de la extracción: para impedir que un resto de orina en la uretra contamine el semen.
- La maniobra debe realizarse sobre una superficie antideslizante: para evitar que el perro sufra resbalones durante el procedimiento.
- Estimulación del macho: es conveniente la estimulación del macho con una perra en estro, ya que esto favorecerá el proceso de extracción del semen. (Sorribas, 2005)

La recolección del semen se realiza para:

- Evaluación de la calidad seminal.
- Efectuar inseminación artificial.

- Preparar semen refrigerado.

La obtención del semen puede realizarse por varios métodos, así vagina artificial, electro eyaculador o manipulación manual.

En el perro la recolección de semen se lleva a cabo por manipulación manual (masturbación), ya que el mayor estímulo del perro es la presión y generalmente este manejo no causa estrés en los perros.

El material para la recolección debe estar esterilizado (guantes, frascos). La colección del semen debe de ser una experiencia agradable para el perro, de lo contrario será más complicado realizarle colecciones posteriores. (Zamora, 2016)

El recolector se debe de colocar del lado izquierdo si es derecho, con el dispositivo de recolección en la mano izquierda y deberá dar el masaje con la mano derecha. Se inicia dando un masaje sobre el pene, especialmente donde se encuentra el bulbo, el prepucio se retrae suavemente hasta que pase el bulbo del pene, el bulbo del pene se sostiene con los dedos pulgar e índice para evitar que el prepucio regrese, se continua estimulando manualmente para que el perro complete su erección, se observara un movimiento de cabalgue, se ejerce una ligera presión en la parte caudal del bulbo, se pasa el miembro posterior sobre el brazo y se rota el pene 180° simulando el abotonamiento, en este momento el perro debe de estar eyaculando, se sigue presionando el bulbo del perro simulando la copula hasta que se colecte el material de interés. Se le pone lubricante en el pene, antes de que se retire el perro siempre se tiene que revisar que el pene haya envainado correctamente. (Canófila, 2001)

5.3.1. Evaluación del semen

El examen del semen debe estar incluido en la evaluación para la confirmación de espermatogénesis normal antes de comenzar a usarlo como semental, casos de infertilidad que puedan ser adjudicados al perro, comprobación de la producción de semen tras enfermedades. Es importante recordar que el espermatozoide es una célula altamente sensible a cambios de temperatura (shock térmico) y la exposición a la luz, por lo tanto, el clínico debe extremar sus precauciones para evitar la muerte espermática por un mal manejo de la muestra. (Jiménez,2005)

La evaluación del semen comprende una evaluación macroscópica y microscópica del mismo.

5.3.2. Evaluación macroscópica

Incluye todas las características que puedan ser observadas a simple vista, estas son:

- a) **Volumen.** - debe ser colectado en un tubo graduado. Varía dependiendo de factores como la edad, tamaño del perro, frecuencia de colección, cantidad colectada de líquido prostático, época del año, etc., obteniéndose un volumen de 1 hasta 40 ml por eyaculado y no está relacionado con la fertilidad del animal. (Torres, 2012)
- b) **Color.** - varía desde gris transparente hasta blanco lechoso, depende directamente de la concentración espermática. Cualquier coloración anormal debe alertar al clínico sobre la existencia de algún problema en el aparato genital del macho, por ejemplo, una coloración amarilla indica contaminación por orina, una coloración verdosa sugiere una infección, una coloración rojiza es indicativo de una hemorragia que generalmente en perros mayores de 5 años es producida por prostatitis, por un traumatismo en el pene o bien por una erección excesiva. (Ochoa, 2012)

5.3.3. Evaluación microscópica

- a) **Motilidad.** - debe evaluarse inmediatamente después de la colección. Se coloca una gota de semen sobre una laminilla (portaobjetos) tibia y se observa al microscopio para evaluar el movimiento progresivo del espermatozoide. Una muestra normal debe tener más de un 70 % de motilidad progresiva ya que este parámetro indica la habilidad de los espermatozoides para alcanzar al óvulo y fertilizarlo. La motilidad se ve afectada por cambios extremos en la temperatura, por diluir el semen en medios ácidos, por presencia de agua, orina, pus o sangre en la muestra y por un exceso de lubricante cuando se trabaja con vagina artificial. (Calderón Yubi, 2007)
- b) **Morfología.** - a una muestra de semen se le tiñe para observar las anomalías espermáticas presentes. Esto se hace tomando una gota de semen, a la que se le agrega una gota de eosina - nigrosina y se hace un frotis; posteriormente se le pone

un cubreobjetos y se observa al microscopio. Las anomalías del espermatozoide se clasifican en primarias y secundarias conforme al sitio donde se localiza el defecto. Un perro normal debe tener un 80 % de espermatozoides normales y un máximo de 20 % de espermatozoides anormales. Todo el material deberá estar a 32°C para tener una evaluación confiable. (Ochoa, 2012)

- c) **Concentración espermática.** - es el número de espermatozoides por ml de semen. El número de espermatozoides en el eyaculado se determina multiplicando la concentración por el volumen total colectado. Los espermatozoides se cuentan mediante un hemocitómetro. Primero en una pipeta cuenta glóbulos (para glóbulos rojos) se hace una dilución de formol al 10 % de 1:100 o 1:200, después se llena la cámara del Hemocitómetro y se cuentan los espermatozoides de los cuadros de los extremos y centro de cada cámara. El Hemocitómetro tiene 2 cámaras, por lo tanto, se cuentan 5 cuadros en cada cámara, se suman los resultados de las dos cámaras y se dividen entre dos para sacar el promedio y el resultado (# de espermatozoides) se multiplica por 5×10^6 ó 10^7 según el factor de dilución (1:100 es por 5×10^6 y 1:200 es por 10^7), obteniéndose así la concentración espermática por ml de eyaculado. Por último, se multiplica la concentración por ml, por el volumen colectado dando como resultado el número de espermatozoides total por eyaculado.

En un eyaculado normal existen en promedio de 200 a 1000 millones de espermatozoides por mililitro y por lo menos 100 millones son necesarios para gestar una perra, siempre y cuando se insemine con semen fresco. Cuando el semen es congelado la concentración espermática debe ser mayor debido a la muerte de espermatozoides ocasionada por los procesos de congelamiento y descongelamiento. (Esquivel, 2000)

5.4. CÉLULAS MADRE

5.4.1. Definición

Es aquella que tiene la capacidad de dividirse indefinidamente y diferenciarse a distintos tipos de células especializadas, no solo morfológicamente sino también en lo funcional para producir diversos tipos de células especializadas. (Carlos Jaime y Idalia Garza y Rocío Ortiz , 2007)

5.4.2. CLASIFICACIÓN

5.4.2.1. Potencial de diferenciación

5.4.2.1.1. Células madre totipotentes

Son células que pueden crecer y formar un organismo completo, tanto los componentes embrionarios (como por ejemplo tres capas embrionarias, el linaje germinal y los tejidos que darán lugar al saco vitelino), como los extras embrionarios (como la placenta). En si pueden formar todos los tipos celulares. (Mitalipov, y otros, 2009)

5.4.2.1.2. Células madre pluripotentes

Son células que no pueden formar un organismo completo, pero si cualquier otro tipo de célula correspondiente a los tres linajes embrionarios (endodermo, ectodermo, mesodermo), así como el germinal y el saco vitelino. (Hans y Schöler, 2007)

5.4.2.1.3. Células madre multipotentes

Son aquellas que solo pueden generar células de su misma capa o linaje de origen embrionario, por ejemplo: una célula madre mesenquimal de medula ósea, al tener naturaleza mesodérmica, dará origen a células de esa capa como: miocitos, adipocitos u osteocitos, entre otras. (Hanna, Saha y Jaenisch, 2010)

5.4.2.1.4. Células madre unipotentes

Pueden formar únicamente un tipo de célula en particular. Como las células madre hematopoyéticas de medula ósea (CMHMO), encargadas de la formación de la sangre, que son las más conocidas y empleadas en la clínica (humana) en la misma medula, aunque también en sangre del cordón umbilical, en sangre periférica y en la grasa corporal, se ha encontrado otro tipo de célula madre, denominada mesenquimal que puede diferenciarse en numerosos tipos de células de los tres derivados embrionarios (musculares, vasculares, nerviosas, hematopoyéticas, óseas, etc.). (Gutiérrez et al., 2010)

5.4.2.2. Según el origen

5.4.2.2.1. Células madre embrionarias

Son consideradas pluripotentes ya que presentan la capacidad de diferenciarse a tejidos de las tres capas embrionarias. Tienen la capacidad de proliferar continuamente gracias a un perfil transcripcional único que las mantiene en un estado indiferenciado. (Frisbie, y otros, 2009)

5.4.2.2.2. Células madre fetales

Se encuentran formando parte de los tejidos y órganos fetales como sangre, hígado y pulmón. Su potencial de diferenciación es similar al de las células adultas, aunque parece mostrar mayor capacidad de expansión y diferenciación que estas al encontrarse en un estado primitivo. (Rosova, y otros, 2008)

5.4.2.2.3. Células madre adultas

Son aquellas que hacen referencia a cualquier célula que se encuentre en un organismo desarrollado y que tiene dos propiedades: la capacidad de dividirse y crear otra célula igual a sí misma y la de dividirse para crear una célula diferente de sí misma. (Pareja, 2015)

5.4.2.2.4. Células madre germinales

Son aquellas que se especializan en la producción de gametos o células que permitirán la formación de un nuevo individuo. Cada célula germinal es diferente genéticamente por la recombinación genética durante la meiosis. Estas células situadas en las gónadas de los aparatos reproductores femenino y masculino. (Queiro, 2004)

5.4.2.2.5. Células madre hematopoyéticas

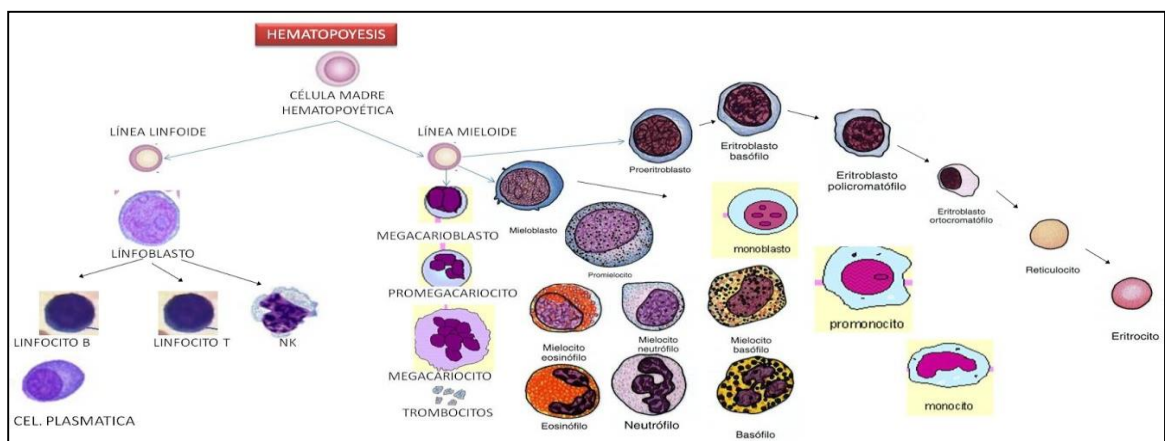
Todas las células de la sangre en el cuerpo comienzan como células inmaduras llamadas células madre hematopoyéticas. Las células madre viven principalmente en la médula ósea (la parte interior esponjosa de ciertos huesos) y es aquí donde se dividen para la producción de nuevas células sanguíneas. Una vez que las células sanguíneas a este proceso se le denomina hematopoyéticas. (Davila, 2011)

5.5.1. SISTEMA HEMATOPOYETICO

5.5.1.1. Hematopoyesis

Es la producción de células de la sangre, un proceso complejo y sumamente regulado; ya que todas las células sanguíneas de la medula ósea surgen de una célula madre común. Esta célula madre multipotencial origina diferentes fases de células progenitoras que posteriormente se diferencian en células de la serie eritrocíticas, granulocíticas, megacarioíticas y agranulocíticas. Como resultado final de este proceso es la emisión de eritrocitos, leucocitos y plaquetas al torrente sanguíneo. (Reagan, 2010)

GRÁFICO 5. ESQUEMA DEL PROCESO DE FORMACIÓN DE LA SANGRE



Fuente: <http://medicinamiguellopez.blogspot.com/2013>

Las células progenitoras son irreconocibles morfológicamente; como la unidad formadora de brotes eritroides (UFB-E), que antecede a la unidad formadora de células eritroides (UFC-E). Las células progenitoras que dan origen a la unidad formadora de granulocitos y monocitos (UFC-GM) descienden de un precursor bipotencial, la unidad formadora de eritrocitos y granulocitos (UFC-GM).

En cultivo, la unidad formadora de brotes megacariocitos (UFB-Meg) antecede a la UFC-Meg y ambas tienen en común a la UFC-GEMM. Las células precursoras que se distinguen por sus características morfológicas y con capacidad de duplicación se encuentran constituidas por eritroblastos, mieloblastos, monoblastos, megacarioblastos y linfoblastos.

Las proteínas reguladoras de la hematopoyesis cumplen funciones específicas y otras con una función general como: eritrocitos (eritropoyetina), plaquetas (trombopoyetina), granulocitos (G-CSF y GM-CSF), monocitos (M-CSF y GM-CSF) e interleucinas son proteínas con funciones menos específicas que las de los factores señalados.

Las células de la sangre se dividen en dos grupos: serie mieloide y serie linfoide. Las primeras comprenden a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, eritrocitos y trombocitos, mientras que las segundas comprenden a los linfocitos B, linfocitos T y células NK (Natural Killer). Las células mieloides son producidas a través de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que los linfoides son resultado de la linfopoyesis. (Mayani, y otros, 2007)

5.5.1.2. Mielopoyesis

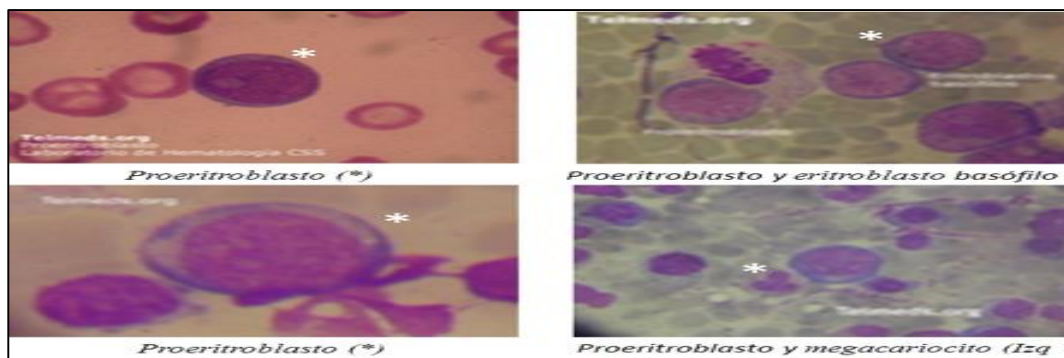
Es el proceso que toma lugar dentro de la medula ósea, sitio en donde las células troncales hematopoyéticas dan lugar a los progenitores mieloides comunes (PMC). Los PCM son células con una alta capacidad proliferativa (activas en el ciclo celular), pero incapaces de auto-renovarse y cuyo potencial de diferenciación está restringida a linajes específicos. (Quesenberry, 2001)

Los PCM se diferencian en progenitores más específicos, tales como los progenitores granulo-monocíticos (PGM), y los progenitores eritroides-megacariocíticos (PEM). La maduración posterior en cada uno de los linajes hematopoyéticos está definida por dos procesos fundamentales: la pérdida definitiva del potencial de autorenovación y la adquisición de una identidad específica. (Rosenbahuer, 2007)

5.5.1.2.1. Eritropoyesis

Se produce en la medula ósea, en islotes alrededor de los macrófagos. El primer precursor del eritrocito reconocible morfológicamente es el rubriblasto una célula grande con cromatina granular gruesa al igual que el prorubricito. A continuación, el rubricito más pequeño y con cromatina granular gruesa y citoplasma azul oscuro; en el desarrollo sigue el metarubricito ligeramente oval con cromatina condensada; el núcleo picnotico es expulsado de la célula para convertirse en un policromatófilo redondo y se vuelve menos azul y más rojo al madurar convertirse en eritrocito maduro. (Reagan, 2010)

GRÁFICO 6. ETAPAS DE LA ERITROPOYESIS



Fuente: <http://www.telmeds.org/atlas/hematologia/serie-blanca/ontogenia-de-serie-granulopoyesis/2013>

5.5.1.2.2. Eritrocitos

Su función es transportar hemoglobina, una proteína intracelular que lleva oxígeno de los pulmones a los tejidos; son discos bicóncavos que en los mamíferos pierden su núcleo antes de penetrar a la circulación. Los eritrocitos en animales adultos se componen de 62 a 72 % de agua y casi 35 % de sólidos; el otro 5 % lo constituyen proteínas, lípidos, vitaminas, glucosa, enzimas y minerales. El número promedio de eritrocitos en sangre es de $5 \text{ a } 7 \times 10^{12}$ por litro; esta cantidad varía mucho entre especies, dentro de especies (por las razas) y entre individuo (debido a edad o enfermedad). El promedio de vida en animales varía de 90 a 120 días. (Ruckebush, 2001) (Palomo y otros, 2005)

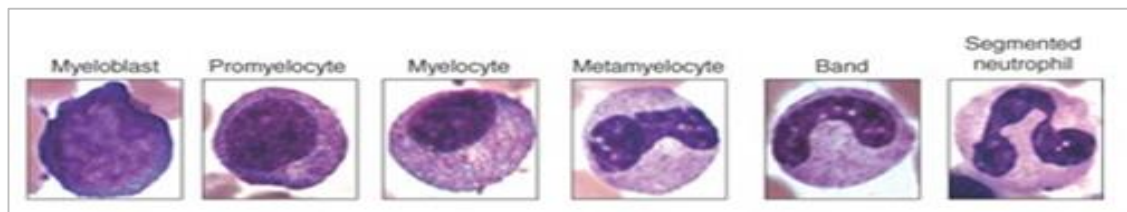
5.5.1.2.3. Granulomonopoyesis

Los progenitores mieloides por su parte incluyen unidades formadoras de colonias granulomonocíticas (CFU-GM), que a su vez dan origen a unidades formadoras de colonias granulocíticas (CFU-G) y unidades formadoras de colonias monocíticas (CFU-M). Una vez encaminadas en la vía de diferenciación, las CFU-G dan lugar a mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos y células maduras (eosinófilos, neutrófilos y basófilos). Mientras que las CFU-M dan lugar a monoblastos, promonocitos, monocitos y macrófagos. A lo largo de la diferenciación, las células de linaje mieloides son reguladas por un amplio número de granulocitos y monocitos (GM-CSF), el factor estimulador de colonias de monocitos (M-CSF), la interleucina-3 (IL-3) e interleucina-6 (IL-6) entre muchas otras. (Nicola y Cohen, 2001)

De forma general en los animales, los cambios morfológicos que se producen en las células de la serie granulocítica mientras maduran incluyen ligera disminución en el tamaño, disminución de la relación núcleo-citoplasma, condensación nuclear progresiva, cambios en la forma nuclear y la aparición de gránulos citoplasmáticos. Los cambios de fondo citoplasma de color gris-azul a azul claro a casi incoloro en la progresión de mieloblastos a granulocitos maduros. (Harvey, 2011)

Los mieloblastos son las primeras células reconocibles de la serie granulocítica; aparecen como grandes células redondas con núcleos redondos a ovalados. El contorno nuclear es regular y suave; la cromatina nuclear es finamente punteada, que contiene uno o más nucléolos. El citoplasma suele ser moderadamente basófilos (gris-azul en color). Los promielocitos contienen pequeños gránulos primarios; visibles dentro del abundante citoplasma, con nucléolos que se pueden ver en algunos promielocitos y en otros no muestran estructura nucleolar. (Jain, 1991; Harvey, 2011)

GRÁFICO 7. GRANULOPOYESIS



Fuente: <http://www.telmeds.org/atlas/hematologia/serie-blanca/ontogenia-de-serie-granulopoyesis>

Los mielocitos se distinguen por contener gránulos secundarios que caracterizan a los neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Se caracteriza por tener núcleos redondos pequeños por su condensación nuclear y citoplasma azul claro. Los mielocitos neutrófilos se caracteriza por su tinción neutral; mientras los mielocitos eosinófilos y basófilos se identifican por sus gránulos característicos. Los metamielocitos visualizan núcleos en forma de riñón; ya que las células precursoras no son capaces de dividirse. Los gránulos de los mielocitos pueden ser neutrófilo, eosinófilo, basófilo o en características a la tinción. (Harvey, 2011)

Las células en banda poseen núcleos en forma de varillas delgadas con lado paralelo; muchas veces los núcleos son en forma de herradura o en forma de S. El núcleo ocupa

dos tercios del diámetro de cualquier otra área de la célula. El color depende hacia el tipo de célula en el que se desarrollará. (Harvey, 2011)

5.5.1.2.4. Neutrófilos

Los neutrófilos, o leucocitos polimorfonucleares son aquellos que cumplen un papel vital en la defensa del organismo contra patógenos. Tiene un diámetro de aproximadamente 10-15 micrómetros (μm), con un núcleo que tiene entre tres y cinco lóbulos. El núcleo se tiñe de color púrpura oscuro y la cromatina agregada con un citoplasma rosa pálido. Además, éstos están en el cuerpo en tres compartimientos: en la médula ósea, en la sangre y en el tejido. Los neutrófilos sobreviven de 1- 4 días en los tejidos normales, y en estados de enfermedad la supervivencia disminuye. (Villiers y Bickwood, 2012)

5.5.1.2.5. Eosinófilos

Existen en una proporción del 1% al 3-4% del número total de glóbulos blancos. Miden aproximadamente entre 10 a 12 μm . Sus núcleos son bilobulados, dos lóbulos unidos por un pequeño puente de cromatina. El citoplasma contiene gránulos específicos de un color rosa intenso y escasos gránulos azurófilos (lisosomas). Los gránulos específicos contienen en su interior estructuras electro-densas en forma de cristales, denominados internum, rodeados por una sustancia transparente, el externum (sustancias sumamente eficaces en la destrucción de parásitos). (Ross, 2007)

5.5.1.2.6. Basófilos

Es más grande que el neutrófilo, con núcleo grande, ligeramente lobulado y en forma de cinta. Los basófilos están involucrados en las enfermedades alérgicas y en la respuesta inflamatoria de algunos parásitos. (Lester y otros, 2005)

5.5.1.2.7. Monocitos

Son células más grandes que los neutrófilos; tiene un núcleo pleomórfico (redondo, oval, en forma de judía, bilobulado o multilobulado) con una cromatina reticulada y el citoplasma azul grisáceo con apariencia de cristal. (Villiers y Bickwood, 2012)

Los precursores de los monocitos surgen de las células madre, los monoblastos son los primeros precursores que en lo posterior dan lugar a los promonocitos (célula grande con

un núcleo oval); y en su etapa final de desarrollo dan origen a los monocitos. (Reagan, 2010)

5.5.1.2.8. Megacariopoyesis

Son la génesis de las plaquetas que representa el 5 a 20% de la población megacariocítica en la médula ósea, es una célula mononuclear (18µm); luego se desarrolla a promegacariocito (20 µm) tiene forma de herradura, citoplasma es basófilo representa el 25% de la población megacariocítica en la médula ósea; dando lugar al megacariocito granular con (35 um) que representa el 56% (1000 a 5000 plaquetas) para madurar y dar lugar a las formas plaquetarias. (Sáez y Palomo, 2005)

5.5.1.2.9. Plaquetas

Son fragmentos pequeños anucleados, considerablemente de menos diámetro que los eritrocitos. El citoplasma es claro y de un gris pálido con numerosos gránulos rosapúrpuras. (Villiers y Bickwood, 2012)

5.5.1.3. Linfopoyesis

Es un proceso dinámico y complejo, el cual está determinado por combinaciones de factores intrínsecos y microambientales que guían la diferenciación de progenitores linfoides a partir de las células troncales hematopoyéticas, para la producción de las células del linaje linfoide como: linfocitos B, linfocitos T, células naturaleskiller (NK) y células dendríticas. (Baba y otros, 2004)

La diferenciación del linaje linfoide progresa gradualmente en la médula ósea; desde progenitores muy primitivos con potencialidades múltiples hasta precursores restringidos, que pierden opciones de diferenciación en paralelo con una ganancia de funciones especializadas. (Baba y otros, 2004)

El desarrollo de las células B (linfocitos B) en la ontogenia, puede ocurrir en el epiplón y el hígado fetal, mientras que después del nacimiento se confina primordialmente a la médula ósea. (Busslinger, 2004). El desarrollo de las células T (linfocitos T) es mantenida por la importación periódica de progenitores hematopoyéticos a través de la corriente sanguínea, y aunque a múltiples progenitores se les reconoce cierto potencial para generar

células T, no todos ellos tienen la propiedad de establecerse en el timo, debido a que este órgano no produce progenitores de renovación autólogo. (Bhandoola y otros, 2003)

Las células asesinas naturales o natural killer (NK) pueden producirse en múltiples sitios. En el feto se han encontrado precursores en médula ósea, hígado, timo, bazo y ganglios linfáticos, mientras que en niños y adultos la médula ósea es el sitio predominante de su desarrollo a partir de progenitores linfoides. (Disanto y Vosshenrich, 2007)

El origen hematopoyético de poblaciones de células dendríticas en el humano es poco definido; sin embargo, la expresión de algunos genes asociados al linaje linfóide en las células plasmacitoides dendríticas (pDCs) sugiere una afiliación linfóide en la médula ósea. (Dontje y otros, 2006)

5.5.1.3.1. Linfocitos

Los linfocitos en la sangre periférica han sido descritos en base a su tamaño y granularidad de su citoplasma. Los linfocitos pequeños son los más comunes, con un tamaño entre 4-10 μm ; y su citoplasma se ve frecuentemente como un anillo periférico alrededor del núcleo. (Lester y otros, 2005)

Dos tipos funcionalmente diferentes de linfocitos han sido descritos: los linfocitos T o timo dependientes y los linfocitos B o médula ósea dependientes. Aproximadamente el 70 a 80% de los linfocitos en sangre periférica muestran características de células T. Además, almacenan y conservan la "memoria inmunológica" (células T de memoria); al ser activadas son las células efectoras o ejecutoras (NK) de la inmunidad celular a la respuesta inflamatoria. (Marcano, 2014)

5.5.1.4 BIOMETRÍA HEMÁTICA (BH)

La biometría hemática, empleada en el análisis se basa en que la aplicación, es el hemograma más la cuenta diferencial de sus componentes; que consta de una serie de pruebas que establecen el número y paridad, porcentaje, concentración y calidad de las células sanguíneas analizadas. (Contreras, Hemogramas en caninos, 2011). Incluyendo al análisis, la cuenta plaquetaria (WBC), la serie roja como los eritrocitos (GR), hemoglobina (HB), hematocrito (HT), y los índices como el volumen corpuscular medio

(VCM), contenido corpuscular medio de hemoglobina (HCM) y concentración corpuscular media de hemoglobina (CMH); así como, los componentes de la serie blanca leucocitos (LEU), linfocitos (LIN), neutrófilos (NEU), eosinófilos (EOS) y monocitos (MON). Es una prueba de detección básica, para establecer el diagnóstico del sistema hematológico, su interacción con otras partes del cuerpo (sistema inmunitario); con la finalidad, de determinar y realizar la valoración de la respuesta al tratamiento, y la dinámica (comportamiento) tanto de la serie roja como de la serie blanca. (Gutiérrez, 2015)

5.5.1.4.1 Componentes hemáticos del canino

La cantidad de sangre que tiene un perro es el 7% aproximado de su peso, por ejemplo, si un perro, de tamaño mediano, pesa unos 15 kilos es probable que posea aproximadamente 1 litro de sangre. (Blogspot, 2009)

La biometría hemática o hemograma, es una herramienta muy útil para la clínica de pequeñas especies, la cual nos proporciona un recuento de tres series celulares sanguíneas, la serie Eritrocitaria (Serie Rojo o Glóbulos Rojos), la serie Leucocitaria (Serie Blanca o Glóbulos Blancos) y la serie Plaquetaria, y nos proporciona una idea muy confiable de la salud o enfermedad de nuestro paciente, por ello es de gran importancia saber realizar una adecuada interpretación de los valores encontrados en dicho estudio. (Contreras, INTERPRETACIÓN DE HEMOGRAMAS EN CANINOS, 2011)

CUADRO 5.- VALORES HEMATOLÓGICOS DEL CANINO

PARAMETRO	RESULTADO	RANGO DE REFERENCIA
WBC (LEUCOCITOS)	$\times 10^3/Ul$	6.0 - 17.0
Lymph# (LINFOCITOS)	$\times 10^3/Ul$	1.5 - 4.7
Mid# (MONOCITOS)	$\times 10^3/Ul$	0.3 - 1.4
Gran# (GRANULOCITOS)	$\times 10^3/Ul$	3.0 - 8.5
Lymph% (LINFOCITOS)	%	12.0 - 30.0
Mid% (MONOCITOS)	%	3.0 - 15.0
Gran% (GRANULOCITOS)	%	60.0 - 70.0
HGB (HEMOGLOBINA)	g/Dl	12.0 - 18.0

RBC (ERITROCITOS)	x10*6UI	5.50 - 8.50
HCT (HEMATOCRITO)	%	37.0 - 55.0
MCV (VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO)	fL	60.0 - 76.0
MCH (HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA)	Pg	19.5 - 24.5
MCHC (CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA)	g/Dl	32.0 - 36.0
RDW-CV (DISTINTO TAMAÑO DE GLOBULOS ROJOS)	%	12.0 - 16.0
RDW-SD (DESVIACION ESTANDAR)	fL	32.0 - 56.0
PLT (PLAQUETAS)	x10*3UI	120 - 500
MPV (TAMAÑO MEDIO DE LAS PLAQUETAS EN LA SANGRE)	fL	7.0 - 11.0
PDW (DISTRIBUCION DE VOLUMEN)		15.0 - 17.0
PCT (PROCALCITONINA)	%	0.108 - 0.282

Fuente: (Pedrozo, 2010)

5.6. FILGRASTIM

La molécula fue descubierta en el Walter and Eliza Hall Institute de Australia en 1983, aislándose de ratones de laboratorio (Metcalf, 1985). Posteriormente se descubrió la molécula humana (Filgrastim®), que fue clonada y purificada (G-CSFrh) por grupos de investigadores en Japón, Alemania y Estados Unidos en 1986 (Nagata et al., 1986). Además, la molécula fue purificada de medio condicionado de placenta por Nicola y Metcal, también en el año de 1986. Y en la actualidad está, se está generando con tecnología de DNA recombinante en Escherichia Coli. (Welte, 1996, Rev. Cienc. Hoy) Este fármaco es utilizado habitualmente, en pacientes (humana) en tratamiento de quimioterapia, pacientes que padecen enfermedades degenerativas e inmunosupresoras,

y además para realizar autotransplantes de sangre con CMH. Además, al Filgrastim (r-Met-Hu-G-CSF), se le ha agregado una metionina en el extremo amino-terminal, que es necesaria para su expresión en E. coli. (Nicola, Metcalf, Matsumoto, Johnson, 1983). No contiene preservativos, la vía de administración recomendada es la vía intravenosa o subcutánea.

5.6.1. Composición

CUADRO 6.- EL G-CSF VIENE EN PRESENTACIONES COMO: FRASCO AMPOLLA O JERINGA PRELLENADA

FILGEN	30 MUI
Filgrastim (r-Met-Hu-G-CSF)	300 µg
Acetato de sodio	
Sorbitol	0,8203 mg
Polisorbato 80	50 mg
Manitol	0,004 %
Ácido acético c.s.p.	50 mg
Agua para inyectables c.s.p.	pH=4
	1ml

Fuente: Laboratorios Bagó S.A./2010

5.6.2. Mecanismo de acción

Actúa en la médula ósea, sobre los receptores específicos situados en los precursores de los neutrófilos. Regula la producción y liberación de neutrófilos activos desde la médula ósea y provoca un aumento marcado de éstos en sangre periférica en el transcurso de las primeras 24 horas.

Después de la administración de rG-CSF se observa un descenso transitorio del recuento de neutrófilos en sangre periférica durante los primeros 5-15 minutos después de la administración intravenosa y a los 30-60 minutos después de la subcutánea. Inmediatamente se produce un incremento marcado dosis-dependiente del recuento de neutrófilos que persiste durante los 5-6 primeros días de tratamiento estabilizándose en

las dos primeras semanas. La neutrofilia inducida durante la administración de rG-CSF se caracteriza por una tendencia de formas inmaduras, incluyendo mielocitos, promielocitos y ocasionalmente mieloblastos. (Catalán M, Álvarez MP, Sádaba J, Honorato J., 2004)

5.6.3. Farmacocinética

El filgrastim es rápidamente absorbido después de la administración subcutánea; los niveles en sangre aumentan a lo largo de 2-8 horas obteniéndose las concentraciones máximas a las 4-5 horas. El filgrastim se distribuye ampliamente sobre todo en la médula ósea, glándulas adrenales, riñones e hígado. La distribución del filgrastim es de 5-8 minutos y una vida media de eliminación de unas 3.5 horas. (Ozer, 2000)

El efecto clínico del filgrastim en la movilización de las CMH desde MO a SP, es motivo de investigación, se han fundamentado diferentes teorías que explican el fenómeno como la producción de enzimas por parte de los neutrófilos (Elastasa de Neutrófilos (NE), Catepsina G (CG), Metaloproteinasa-9 (MMP-9) y Metaloproteinasa-2 (MMP-2) las que rompen la unión de las (CMH) con las moléculas de adhesión (VLA-4/ VCAM-1 o CD106) que las mantienen unidas al nicho en la médula ósea. (BELLO, y otros, 2009). Posteriormente se produce señales químicas (CXCL12 o SDF-1 y su receptor CXCR4), que genera la unión específica del G-CSF con su receptor (G-CSFR), que induce la señalización interna de las proteínas y consecuentemente su movilización de la médula ósea a sangre periférica. Sin embargo, la movilización exitosa de CMH de MO a SP depende de factores como: la edad, estados patológicos, el grado de compromiso de la MO, la carga de quimioterapia y/o radioterapia recibida, además de la intensidad del tratamiento. (Rajan, y otros, 2011)

El protocolo de aplicación del fármaco, que hace referencia a la dosis es de 1 - 20 mcg/kg/día vía intravenosa o subcutánea (humana), sin embargo, la dosis aplicada por la vía subcutánea debe ser menor a la intravenosa. Adicionalmente, el Filgratim®, está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad conocida a proteínas de E. coli, o cualquier componente del producto. En ratones que no podían producir el G-CSF endógeno tuvieron neutropenia crónica, y movilización defectuosa de neutrófilos, lo que indica que el G-CSF es indispensable para mantener la producción de neutrófilos en un

estado basal, y sugiere también que el G-CSF tiene un papel importante en la granulopoyesis de emergencia en respuesta a una infección (Rodríguez et al., 2014)

El efecto del Filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF), sobre los neutrófilos es vital en ciertas enfermedades, ya que la principal función de los neutrófilos es mantener la inmunidad antibacterial. Estos fagocitos ingieren a los patógenos, y liberan sustancias citotóxicas, quimioattractantes e inflamatorias en el sitio de la lesión, que amplifican la respuesta del huésped y favorecen la inmunidad adaptativa, atrayendo células dendríticas y macrófagos (Lathia et al., 2013). Entre los efectos del Filgrastim® (r-Met-Hu-G-CSF) sobre los neutrófilos, está la estimulación de proliferación de precursores mieloides, y la reducción del tiempo de tránsito de los neutrófilos inmaduros por médula, para ser liberados rápidamente a la circulación. También, moviliza vesículas secretoras e induce a la liberación del contenido de los gránulos, activando la función fagocítica y el estallido respiratorio (Rodríguez et al., 2014)

6.- VALIDACIÓN DE LAS HIPOTESIS

HIPOTESIS AFIRMATIVA HI

- El filgrastim influye en la relación entre la serie roja y serie blanca versus la calidad seminal del canino doméstico.

HIPOTESIS NULA HO

- El filgrastim no influye en la relación entre la serie roja y serie blanca versus la calidad seminal del canino doméstico.

7.- MATERIALES

7.1. Recurso Humanos

Postulante: Nataly Latacunga

Director: Dr. Miguel Gutiérrez

7.2. Materiales De Oficina

- Libreta
- Papel bond

- Flash memory
- Laptop
- Cámara
- Copias
- Internet
- CD
- Impresora
- Esferos

7.3. Materiales de campo

- Balanza
- Gasas
- Algodón
- Maquinilla para rasurar
- Gradillas
- Guantes
- Jeringas de (3ml)
- Tubos vacutainer tapa lila (EDTA)
- Tubos de tapa roja
- Mascarillas
- Uniforme de clínica
- Termómetro
- Cajas de muestra de orina
- Cinta métrica

7.4. Materiales de laboratorio

- Analizador hemático (Human Count 30)
- Centrífuga (5424 Eppendorf)
- Guantes de manejo
- Microscopio (Human Scope)
- Cubre y porta objetos

- Cámara de Neubauer
- Micropipeta Boeco
- Puntas de pipeta de 4 y de 100 microlitros
- Baño María
- Bortex

7.5. Insumos

- Alcohol (70%)
- Filgrastim®
- Yodo povidona

8.- PROCEDIMIENTO/MÉTODO

8.1. Métodos

8.1.1. Inductivo

El método inductivo es aquel método científico que alcanza conclusiones generales partiendo de hipótesis o antecedentes en particular (Santaella, 2015). Es decir, al realizar el proyecto se desea obtener células madre hematopoyéticas y valorar la calidad seminal utilizando Filgrastim en perros domésticos (Familia Canidae).

8.1.2. Experimental

El método utilizado es experimental, el cual se utilizó para el diagnóstico de la relación variable independiente (filgrastim) con las variables dependientes (serie roja, serie blanca y calidad seminal); basándose en la metodología científica. Con este método se recopiló datos para medir y comparar el comportamiento de los parámetros hemáticos del grupo control con la del grupo tratamiento y para el análisis estadístico se empleó la prueba T students para dos muestras emparentadas y desiguales.

8.2. Procedimiento

Para el desarrollo de la presente investigación a continuación se describe el procedimiento empleado.

Se seleccionaron 10 animales, de 6 meses a 1 año de edad, raza mestiza de tamaño mediano de sexo macho, elaborando historias clínicas de cada uno de los animales. Se valoró la condición corporal y estado clínico de salud de los caninos.

Luego se procedió a rasurar y desinfectar el lugar determinado para la extracción de sangre por punción de la vena yugular, se recolecto 3ml de sangre entera, 1ml se depositó en un tubo de tapa lila con anticoagulante (EDTA - Etilendiaminotetracético) minicollect para realizar exámenes - biometrías hemáticas (serie roja y serie blanca) y 2ml en tubo de tapa roja sin anticoagulante para exámenes hormonales (testosterona). Una vez recolectada las muestras se trasladaron debidamente rotuladas e identificadas (grupo control y tratamiento), en cámaras de frío (culler), a una temperatura de entre 3-6 °C, hasta el laboratorio.

Se procedió a la toma de muestras de semen en los caninos; se recolecto en un lugar tranquilo para evitar que el perro se ponga nervioso o se distraiga. La recolección de semen se llevó a cabo por manipulación manual (masturbación), ya que el mayor estímulo del perro es la presión y generalmente este manejo no causa estrés. El material para la recolección debe estar esterilizado (guantes, frascos para la recolección del semen).

Al recolectar las muestras de semen nos colocamos del lado izquierdo, con el dispositivo de recolección en la mano izquierda y se dio el masaje con la mano derecha. Se inició dando un masaje sobre el pene, especialmente donde se encuentra el bulbo, el prepucio se retrae suavemente hasta que pase el bulbo del pene, el bulbo del pene se sostiene con los dedos pulgar e índice para evitar que el prepucio regrese, se continua estimulando manualmente para que el perro complete su erección, se observó un movimiento de cabalgue, se ejerció una ligera presión en la parte caudal del bulbo, se pasó el miembro posterior sobre el brazo y se rota el pene a 180° simulando el abotonamiento, en ese momento el perro estaba eyaculando.

Una vez obtenida la muestra de semen se analizó los parámetros macroscópicamente (volumen, color y morfometria) y microscópicamente (motilidad, morfología, vitalidad) y se identificó correctamente cada una de las muestras.

Características macroscópicas:

Volumen: el volumen se expresó en mililitros (mL), y su valor se obtuvo mediante la medición en una jeringa de 5ml absorbiendo cada muestra de semen recolectada.

Color: se evaluó por medio de la visualización directa del eyaculado.

Características microscópicas:

Una vez recogida la muestra de semen se utilizó una pequeña cantidad para lo cual se utilizó micropipeta automática (dilución de 4 microlitros de semen en 96 microlitros de agua entubada), después de obtener la muestra correcta fue colocada en la cámara de Neubauer le cubrimos con el cubreobjetos y le colocamos sobre la platina del microscopio, y se procedió a contar los espermatozoides de cada cuadrante, evaluando paralelamente la motilidad con una proporción de semen en un porta objetos.

Valoración de morfometría testicular se realizó mediante palpación y se midió con una cinta el largo y el ancho de cada testículo izquierdo y derecho. Se confirmó que ambos testículos estén presentes en el escroto, que sean de tamaño y consistencia normal.

Se aplicó filgrastim por vía subcutánea a una dosis de 5mcg/kg de peso vivo, con un intervalo de 24 horas por 4 días consecutivos.

8.3. Técnicas

8.3.1. Observación directa

La observación directa generó una relación entre el investigador y el objeto de la investigación órganos hematopoyéticas (serie roja y serien blanca) y evaluación de los parámetros seminales macro y microscópicos; lo que permitió obtener resultados primarios, originales e inéditos.

8.3.2. Observación de campo

La observación de campo permitió captar los fenómenos que se manifiestan en el lugar de los hechos; desde la preparación de los animales, aplicación del Filgrastim y la obtención de las muestras para ser analizadas tanto para biometrías hemáticas y hormonales (testosterona).

9.- RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

9.1. Dosis de Filgrastim

GRUPO TRATAMIENTO

NOMBRE	PESO	EDAD	DOSIS DE FILGRASTIM 5MCG/KG
PELUCHIN	8 kg	7 meses	5mcg*8/1kg=40mcg*4=160mcg
DOCKY	3,5 kg	8 meses	5mcg*3,5/1kg=17,5mcg*4=70mcg
PELUCHIN	3,5 kg	8 meses	5mcg*3,5/1kg=17,5mcg*4=70mcg
MANCHAS	10 kg	10 meses	5mcg*10/1kg=50mcg*4=200mcg
LUCAS	9 kg	11 meses	5mcg*9/1kg=45mcg*4=180mcg

GRUPO CONTROL

NOMBRE	PESO	EDAD
NEGRO	4 kg	7 meses
PANCHITO	5 kg	9 meses
DRACO	10 kg	12 meses
OSO	7 kg	10 meses
MAX	6 kg	9 meses

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

A continuación, en el presente capítulo se detalla los resultados obtenidos en la fase de experimentación, los análisis estadísticos y los esquemas gráficos de los mismos por cada uno de los tratamientos; siendo: Tratamiento 1 (T1= μ g. de Filgrastim®); Tratamiento 0/control y así determinando su influencia en las variables de los componentes sanguíneos: serie roja y serie blanca y material seminal.

Cuadro N°- 7 Biometrías Hemáticas pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento)

GRUPO TRATAMIENTO DIA 1

NOMBRE	EDAD	WBC	Lymph#	Mid#	Gran#	RBC	PLT
		LEUCOCITOS	LINFOCITOS	MONOCITOS	GRANULOCITOS	ERITROCITOS	PLAQUETAS
		Rango de referencia					
		6,000-17,000	1,500-4,700	300-1,400	3,000-8,500	5500000-8500000	120000-500000
	Meses	uL	uL	uL	uL	uL	uL
PELUCHIN	7	10,300	3,200	1,600	5,500	6,910,000	289,000
DOCKY	8	10,400	4,700	2,200	3,500	5,560,000	367000
PELUCHIN	8	10,500	6,100	2,100	2,300	7,160,000	276000

MANCHAS	10	16,400	3,200	2,700	10,500	7,190,000	308000
LUCAS	11	14,700	6,600	2,700	5,400	6,950,000	261000

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

En el Cuadro 1; Se presentan los de valores hemáticos del grupo tratamiento en el primer día (pre aplicación del filgrastim®). Se determinan los valores y rangos de la serie blanca y serie roja. Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo de tratamiento se encuentra dentro de los valores normales referencial según la especie canina.

TABLA N.- 1 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los leucocitos-WBC/ul– pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Leucocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Leucocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>
Media	12460	15500
Varianza	8323	10955
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	0,1259	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-1,6549	
P(T<=t) una cola	0,0866	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,1733	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 1. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias de leucocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, se determina que no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1733).

TABLA N.- 2 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los leucocitos-WBC/ul– post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Leucocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>	<i>Leucocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	15500	12640
Varianza	10955	20848
Observaciones	5	5

Coefficiente de correlación de Pearson	0,431428872
Diferencia hipotética de las medias	0
Grados de libertad	4
Estadístico t	1,4764
P(T<=t) una cola	0,1069
Valor crítico de t (una cola)	2,1318
P(T<=t) dos colas	0,2139
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764

En la tabla N^o- 2. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias de los leucocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor < 0.05 (0,2139).

TABLA N.- 3 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los leucocitos-WBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y pos aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Leucocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Leucocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	12460	12640
Varianza	8323	20848
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,88532125	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-0,1665	
P(T<=t) una cola	0,4379	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,8759	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N^o- 3. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias, respecto a los leucocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor < 0.05 (0,8759).

TABLA N.- 4 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Linfocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Linfocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>
Media	4760	7100
Varianza	2513	3065
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,390046532	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-1,8804	
P(T<=t) una cola	0,0666	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	

P(T<=t) dos colas	0,1332
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764

En la tabla N°- 4. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1332).

TABLA N.- 5 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los linfocitos- Lymph#/ul– post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Linfocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>	<i>Linfocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	7100	2640
Varianza	3065	1583
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,568619878	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	6,8125	
P(T<=t) una cola	0,0012	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0024	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 5. Se observa que existen diferencias numéricas entre los linfocitos post aplicación de filgrastim. Por tanto, existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) – 0,0024, que demuestra un incremento en la varianza de los resultados, pero con un notable aumento en los linfocitos que refleja el manejo en el ensayo. Los valores demuestran el incremento en la movilización de células (linfocitos) de médula ósea a sangre periférica debido a la influencia del filgrastim® en el organismo del canino; como lo describe (GUTIÉRREZ, 2015) en el que detalla el incremento de leucocitos en sangre periférica en una primera aplicación de filgrastim al utilizarlo en bovinos; y se sustentan en el estudio (WALBERG Y LOAR, 2004) en el que indican que valores de linfocitos raramente sobrepasan el límite superior de los rangos normales en cobayos.

TABLA N.- 6 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los linfocitos- Lymph#/ul– pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Linfocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Linfocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	4760	2640
Varianza	2513	1583
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,31686945	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,8169	
P(T<=t) una cola	0,0240	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0480	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 6. Se observa que existen diferencias numéricas entre linfocitos pre y post aplicación de filgrastim. Por tanto, existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) – 0,0480, que demuestra un incremento en la varianza de los resultados, pero con un notable aumento en los linfocitos que refleja el manejo en el ensayo. Los valores demuestran el incremento en la movilización de células (linfocitos) de médula ósea a sangre periférica debido a la influencia del filgrastim® en el organismo del canino; como lo describe (GUTIÉRREZ, 2015) en el que detalla el incremento de leucocitos en sangre periférica en una primera aplicación de filgrastim al utilizarlo en bovinos; y se sustentan en el estudio (WALBERG Y LOAR, 2004) en el que indican que valores de linfocitos raramente sobrepasan el límite superior de los rangos normales en cobayos.

TABLA N.- 7 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los monocitos-Mid#/ul– pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Monocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Monocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>
Media	2260	3480
Varianza	213	772000
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,478413337	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	

Estadístico t	-3,5307
P(T<=t) una cola	0,0121
Valor crítico de t (una cola)	2,1318
P(T<=t) dos colas	0,0242
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764

En la tabla N°- 7. Se observa que existen diferencias numéricas entre los monocitos pre y post aplicación de filgrastim. Existe diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) – 0,0242, que demuestra un incremento en la varianza de los resultados, pero con un notable aumento en los linfocitos que refleja el manejo en el ensayo. Los valores demuestran el incremento en la movilización de células (monocitos) de médula ósea a sangre periférica debido a la influencia del filgrastim® en el organismo del canino; como lo describe (GUTIÉRREZ, 2015) en el que detalla el incremento de monocitos en sangre periférica en una primera aplicación de filgrastim al utilizarlo en bovinos; y se sustentan en el estudio (WALBERG Y LOAR, 2004).

TABLA N.- 8 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los monocitos-Mid#/ul-post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Monocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>	<i>Monocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	3480	2420
Varianza	7720	1597
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,561082778	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,2367	
P(T<=t) una cola	0,0445	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0890	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 8. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias de los monocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas $p\text{-valor} < 0.05$ (0,0890).

TABLA N.- 9 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los monocitos-Mid#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Monocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Monocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	5440	2420
Varianza	9808	1597
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,63458601	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,6731	
P(T<=t) una cola	0,0278	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0556	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 9. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,0556).

TABLA N.- 10 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los granulocitos- Gran#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Granulocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Granulocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>
Media	5440	4920
Varianza	9808	2282
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,083175743	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0,3240	
P(T<=t) una cola	0,3811	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,7622	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 10. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias, respecto a los granulocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,7622).

TABLA N.- 11 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los granulocitos- Gran#/ul- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Granulocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>	<i>Granulocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	4920	7580
Varianza	2282000	4787000
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,068983514	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,3130	
P(T<=t) una cola	0,0409	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0818	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 11. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias, respecto a los granulocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,0818).

TABLA N.- 12 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los granulocitos- Gran#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Granulocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Granulocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	5440	7580
Varianza	9808	4787
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,61236948	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-1,9213	
P(T<=t) una cola	0,0635	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,1271	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 12. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los granulocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1271).

TABLA N.- 13 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los eritrocitos- RBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Eritrocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Eritrocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>
Media	6754000	6410000
Varianza	4,6083E+11	9,3815E+11
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,513181206	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0,9039	
P(T<=t) una cola	0,2086	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,4171	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 13. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,4171).

TABLA N.- 14 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los eritrocitos- RBC/ul- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Eritrocitos post aplicación de filgrastim día 6</i>	<i>Eritrocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	6410000	6618000
Varianza	9,3815E+11	9,5807E+11
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,526444761	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-0,4908	
P(T<=t) una cola	0,3246	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,6493	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 14. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,6493).

TABLA N.- 15 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas respecto a los eritrocitos- RBC/ul-pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Eritrocitos pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Eritrocitos post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	6754000	6618000
Varianza	4,6083E+11	9,5807E+11
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	0,38100098	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0,3183	
P(T<=t) una cola	0,3831	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,7662	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 15. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,7662).

GRUPO CONTROL

Cuadro N°- 8 Biometrías Hemáticas día 1 (grupo control)

NOMBRE	EDAD	WBC	Lymph#	Mid#	Gran#	RBC	PLT
		LEUCOCITOS	LINFOCITOS	MONOCITOS	GRANULOCITOS	ERITROCITOS	PLAQUETAS
		Rango de referencia					
	6,000-17,000	1,500-4,700	300-1,400	3,000-8,500	5500000-8500000	120000-500000	
Meses	uL	uL	uL	uL	uL	uL	
NEGRO	7	12,200	4,200	1,900	6,100	6,200,000	539000
PANCHITO	9	9,300	4,500	2,300	2,500	5,370,000	330000
DRACO	12	6,900	3,100	1,700	2,100	5,420,000	247000
OSO	10	9,200	3,600	2,700	2,900	7,510,000	511000
MAX	9	10,700	3,400	2,100	5,200	5,850,000	498000

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

En el Cuadro 2; Se presentan los de valores hemáticos del grupo control en el primer día. Se determinan los valores y rangos de la serie blanca y serie roja. Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo control se encuentra dentro de los valores normales referencial según la especie canina.

TABLA N.- 16 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los leucocitos-WBC/ul- día 1 y día 6.

	<i>Leucocitos día 1</i>	<i>Leucocitos día 6</i>
Media	9660	10140
Varianza	3873	3228
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,839832773	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-0,9957	
P(T<=t) una cola	0,1879	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,3758	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 16. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,3758) en el grupo control.

TABLA N.- 17 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los leucocitos-WBC/ul- día 6 y día 55.

	<i>Leucocitos día 6</i>	<i>Leucocitos día 55</i>
Media	10140	9400
Varianza	3228	2885
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,567719186	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1,0169	
P(T<=t) una cola	0,1834	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,3667	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 17. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,3667).

TABLA N.- 18 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los leucocitos-WBC/ul- día 1 y día 55.

	<i>Leucocitos día 1</i>	<i>Leucocitos día 55</i>
Media	9660	9400
Varianza	3873	2885
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,854849342	

Diferencia hipotética de las medias	0
Grados de libertad	4
Estadístico t	0,5693
P(T<=t) una cola	0,2998
Valor crítico de t (una cola)	2,1318
P(T<=t) dos colas	0,5996
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764

En la tabla N°- 18. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas.

TABLA N.- 19 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- día 1 y día 6.

	<i>Linfocitos día 1</i>	<i>Linfocitos día 6</i>
Media	3760	3800
Varianza	3330	8600
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,621327116	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-0,1231	
P(T<=t) una cola	0,4540	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,9080	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 19. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,9080).

TABLA N.- 20 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- día 6 y día 55.

	<i>Linfocitos día 6</i>	<i>Linfocitos día 55</i>
Media	3800	2320
Varianza	8600	1527
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,170163287	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,3418	
P(T<=t) una cola	0,0396	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0792	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 20. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas $p\text{-valor} < 0.05$ (0,0792)

TABLA N.- 21 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los linfocitos- Lymph#/ul- día 1 y día 55.

	<i>Linfocitos día 1</i>	<i>Linfocitos día 55</i>
Media	3760	2320
Varianza	3330	1527
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,037162442	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	2,3280	
P(T<=t) una cola	0,0402	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0804	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 21. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas $p\text{-valor} < 0.05$ (0,0804).

TABLA N.- 22 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los monocitos- Mid#/ul- día 1 y día 6.

	<i>Monocitos día 1</i>	<i>Monocitos día 6</i>
Media	2140	3320
Varianza	1480	3037
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,217770778	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-1,4150	
P(T<=t) una cola	0,1150	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,2300	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 22. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas.

TABLA N.- 23 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los monocitos- Mid#/ul- día 6 y día 55.

	<i>Monocitos día 6</i>	<i>Monocitos día 55</i>
Media	3320	2060
Varianza	3037	6080
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,462888573	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1,2724	
P(T<=t) una cola	0,1361	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,2722	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 23. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,2722).

TABLA N.- 24 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los monocitos- Mid#/ul- día 1 y día 55.

	<i>Monocitos día 1</i>	<i>Monocitos día 55</i>
Media	2140	2060
Varianza	1480	6080
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,856742825	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0,3636	
P(T<=t) una cola	0,3673	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,7345	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 24. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,7345).

TABLA N.- 25 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- día 1 y día 6.

	<i>Granulocitos día 1</i>	<i>Granulocitos día 6</i>
Media	3760	6620
Varianza	3158	4087
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,456216062	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	

Estadístico t	-1,9714
P(T<=t) una cola	0,0600
Valor crítico de t (una cola)	2,1318
P(T<=t) dos colas	0,1200
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764

En la tabla N°- 25. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los granulocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1200).

TABLA N.- 26 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- día 6 y día 55.

	<i>Granulocitos día 6</i>	<i>Granulocitos día 55</i>
Media	6620	5360
Varianza	4087	7193
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,767063948	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0,6364	
P(T<=t) una cola	0,2795	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,5591	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 26. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los granulocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,5591).

TABLA N.- 27 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- día 1 y día 55.

	<i>Granulocitos día 1</i>	<i>Granulocitos día 55</i>
Media	3760	5360
Varianza	3158	7193
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,868743756	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,4867	
P(T<=t) una cola	0,0339	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0677	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 27. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los granulocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas $p\text{-valor} < 0.05$ (0,0677).

TABLA N.- 28 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- día 1 y día 6.

	<i>Eritrocitos día 1</i>	<i>Eritrocitos día 6</i>
Media	6070000	7316000
Varianza	7,6285E+11	3,1938E+11
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,407619116	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,2866	
P(T<=t) una cola	0,0421	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0842	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°-28. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas $p\text{-valor} < 0.05$ (0,0842).

TABLA N.- 29 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- día 6 y día 55.

	<i>Eritrocitos día 6</i>	<i>Eritrocitos día 55</i>
Media	7316000	6586000
Varianza	3,1938E+11	6,7353E+11
Observaciones	5	5
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,632155949	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1,2989	
P(T<=t) una cola	0,1319	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,2638	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 29. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas $p\text{-valor} < 0.05$ (0,2638).

TABLA N.- 30 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- día 1 y día 55.

	<i>Eritrocitos día 1</i>	<i>Eritrocitos día 55</i>
Media	6070000	6586000
Varianza	7,6285E+11	6,7353E+11
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,628592281	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-1,5771	
P(T<=t) una cola	0,0950	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,1899	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 30. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1899).

GRUPO TRATAMIENTO Y CONTROL

TABLA N.- 31 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los leucocitos- WBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Leucocitos pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Leucocitos día 1 (grupo control)</i>
Media	12460	9660
Varianza	8323	3873
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	1,7928	
P(T<=t) una cola	0,0580	
Valor crítico de t (una cola)	1,8946	
P(T<=t) dos colas	0,1161	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3646	

En la tabla N°- 31. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1161).

TABLA N.- 32 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los leucocitos- WBC/ul- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Leucocitos post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Leucocitos día 6 (grupo control)</i>
Media	15500	10140
Varianza	10955	3228
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	3,1825	
P(T<=t) una cola	0,0095	
Valor crítico de t (una cola)	1,9432	
P(T<=t) dos colas	0,0190	
Valor crítico de t (dos colas)	2,4469	

En la tabla N°- 32. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,0190)

TABLA N.- 33 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los leucocitos- WBC/ul- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Leucocitos post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Leucocitos día 55 (grupo control)</i>
Media	12640	9400
Varianza	20848	2885
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	1,4871	
P(T<=t) una cola	0,0986	
Valor crítico de t (una cola)	2,0150	
P(T<=t) dos colas	0,1971	
Valor crítico de t (dos colas)	2,5706	

En la tabla N°- 33. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los leucocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1971)

TABLA N.- 34 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los linfocitos-Lymph#/u- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Linfocitos pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Leucocitos día 1 (grupo control)</i>
Media	4760	3760
Varianza	2513	333
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	1,3255	
P(T<=t) una cola	0,1212	
Valor crítico de t (una cola)	2,0150	
P(T<=t) dos colas	0,2423	
Valor crítico de t (dos colas)	2,5706	

En la tabla N°- 34. Se observa que existen diferencias numéricas en las medias respecto a los linfocitos pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor < 0.05 (0,2423).

TABLA N.- 35 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los linfocitos-Lymph#/u- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Linfocitos post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Linfocitos día 6 (grupo control)</i>
Media	7100	3800
Varianza	3065	8600
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	3,7246	
P(T<=t) una cola	0,0049	
Valor crítico de t (una cola)	1,9432	
P(T<=t) dos colas	0,0098	
Valor crítico de t (dos colas)	2,4469	

En la tabla N°- 35. Se observa que existe diferencias numéricas considerables entre los linfocitos post aplicación de filgrastim. Existe diferencia estadística significativa ($p < 0,05$) – 0,098; demostrando un incremento en la varianza de los resultados, pero con un notable aumento en los leucocitos que refleja el manejo en el ensayo. Los valores demuestran el incremento en la movilización de células (leucocitos) de médula ósea a sangre periférica debido a la influencia del filgrastim® en el organismo del canino; como lo describe (GUTIÉRREZ, 2015) en el que detalla el incremento de leucocitos en sangre

periférica en una primera aplicación de filgrastim al utilizarlo en bovinos; y se sustentan en el estudio (WALBERG Y LOAR, 2004).

Por tanto, el promedio de valores absolutos de leucocitos entre el grupo control y tratamiento (Filgrastim®); determinan diferencias estadísticas significativa, determinando una incremento y movilización, por efecto de la aplicación de filgrastim.

TABLA N.- 36 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los linfocitos-Lymph#/u- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Linfocitos post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Linfocitos día 55 (grupo control)</i>
Media	2640	2320
Varianza	1583	1527
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0,4057	
P(T<=t) una cola	0,3478	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,6956	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 36. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los linfocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,6956).

TABLA N.- 37 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los monocitos- Mid#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Monocitos pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Monocitos día 1 (grupo control)</i>
Media	2260	2140
Varianza	213	148
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0,4466	
P(T<=t) una cola	0,3335	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,6670	

Valor crítico de t (dos colas) 2,3060

En la tabla N°- 37. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,6670).

TABLA N.- 38 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los monocitos- Mid#/ul- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Monocitos post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Monocitos día 6 (grupo control)</i>
Media	3480	3320
Varianza	772	3037
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	0,1833	
P(T<=t) una cola	0,4303	
Valor crítico de t (una cola)	1,9432	
P(T<=t) dos colas	0,8606	
Valor crítico de t (dos colas)	2,4469	

En la tabla N°- 38. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,8606).

TABLA N.- 39 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los monocitos- Mid#/ul- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Monocitos post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Monocitos día 55 (grupo control)</i>
Media	2420	2060
Varianza	1597	6080
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	0,5421	
P(T<=t) una cola	0,3023	
Valor crítico de t (una cola)	1,8946	
P(T<=t) dos colas	0,6046	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3646	

En la tabla N°- 39. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los monocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,6046).

TABLA N.- 40 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Granulocitos pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Granulocitos día 1 (control)</i>
Media	5440	3760
Varianza	9808	3158
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	1,0433	
P(T<=t) una cola	0,1685	
Valor crítico de t (una cola)	1,9432	
P(T<=t) dos colas	0,3370	
Valor crítico de t (dos colas)	2,4469	

En la tabla N°- 40. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias de la variable 1 y 2 respecto a los granulocitos pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,3370).

TABLA N.- 41 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Granulocitos post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Granulocitos día 6 (grupo control)</i>
Media	4920	6620
Varianza	2282	4087
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	-1,5063	
P(T<=t) una cola	0,0879	
Valor crítico de t (una cola)	1,8946	
P(T<=t) dos colas	0,1757	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3646	

En la tabla N°-41. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los granulocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1757).

TABLA N.- 42 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los granulocitos- Gran#/ul- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Granulocitos post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Granulocitos día 55 (grupo control)</i>
Media	7580	5360
Varianza	4787	7193
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	1,4342	
P(T<=t) una cola	0,0947	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,1894	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 42. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los granulocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1894).

TABLA N.- 43 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Eritrocitos pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Eritrocitos día 1 (grupo control)</i>
Media	6754000	6070000
Varianza	4,6083E+11	7,6285E+11
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	1,3826	
P(T<=t) una cola	0,1021	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,2041	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 43. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,2041).

TABLA N.- 44 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Eritrocitos post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Eritrocitos día 6 (grupo control)</i>
Media	6410000	7316000
Varianza	9,3815E+11	3,1938E+11
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-1,8066	
P(T<=t) una cola	0,0604	
Valor crítico de t (una cola)	1,9432	
P(T<=t) dos colas	0,1208	
Valor crítico de t (dos colas)	2,4469	

En la tabla N°- 44. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1208).

TABLA N.- 45 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a los eritrocitos- RBC/ul- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Eritrocitos post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Eritrocitos día 55 (grupo control)</i>
Media	6618000	6586000
Varianza	9,5807E+11	6,7353E+11
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0,0560	
P(T<=t) una cola	0,4784	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,9567	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 45. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los eritrocitos post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,9567).

HORMONALES (TESTOSTERONA)

Cuadro N°- 9 Análisis hormonales (testosterona) pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento).

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM DIA 1

NOMBRE	EDAD (meses)	TESTOSTERONA (ng/ml)
PELUCHIN	7	0,1
DOCKY	8	0,54
PELUCHIN	8	0,42
MANCHAS	10	0,32
LUCAS	11	0,27

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

En el Cuadro 3; Se presentan los de valores hormonales del grupo tratamiento en el primer día (pre aplicación del filgrastim®). Se determinan los valores y rangos de testosterona. Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo tratamiento se encuentra dentro de los valores normales referencial según la especie canina.

TABLA N.- 46 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Testosterona pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Testosterona post aplicación de filgrastim día 6</i>
Media	0,33	3,05
Varianza	0,0272	6,5264
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,794272513	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,5073	
P(T<=t) una cola	0,0331	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0662	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 46. Se observa que existen incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor < 0.05 (0,0662)

TABLA N.- 47 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- post aplicación de filgrastim día 6 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Testosterona post aplicación de filgrastim día 6</i>	<i>Testosterona post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	3,05	2,076
Varianza	6,5264	2,64563
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,801785086	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1,3750	
P(T<=t) una cola	0,1206	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,2411	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 47. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona post y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,2411)

TABLA N.- 48 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- pre aplicación de filgrastim día 1 y post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Testosterona pre aplicación de filgrastim día 1</i>	<i>Testosterona post aplicación de filgrastim día 55</i>
Media	0,33	2,076
Varianza	0,0272	2,64563
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,964378286	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,6593	
P(T<=t) una cola	0,0282	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,0564	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 48. Se observa que existe incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona pre y post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,0564).

GRUPO CONTROL

Cuadro N°- 10 Análisis hormonales (testosterona) pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Control).

GRUPO CONTROL SIN FILGRASTIM DIA 1

NOMBRE	EDAD (meses)	TESTOSTERONA (ng/ml)
NEGRO	7	0,21
PANCHITO	9	0,14
DRACO	12	0,68
OSO	10	0,96
MAX	9	0,12

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga, N. 2018

En el Cuadro 4; Se presentan los de valores hormonales del grupo control en el primer día. Se determinan los valores y rangos de testosterona. Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo control se encuentra dentro de los valores normales referencial según la especie canina.

TABLA N.- 49 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- día 1 y día 6.

	<i>Testosterona día 1</i>	<i>Testosterona día 6</i>
Media	0,422	2,572
Varianza	0,14292	4,38912
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,673096798	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-2,0319	
P(T<=t) una cola	0,0560	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,1120	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 49. Se observa que existen un incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1120).

TABLA N.- 50 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- día 6 y día 55.

	<i>Testosterona día 6</i>	<i>Testosterona día 55</i>
Media	2,572	2,316
Varianza	4,38912	6,83663
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	0,725889426	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	0,3164	
P(T<=t) una cola	0,3838	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,7675	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 50. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,7675).

TABLA N.- 51 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- día 1 y día 55.

	<i>Testosterona día 1</i>	<i>Testosterona día 55</i>
Media	0,422	2,316
Varianza	0,14292	6,83663
Observaciones	5	5
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,128343619	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-1,5747	
P(T<=t) una cola	0,0952	
Valor crítico de t (una cola)	2,1318	
P(T<=t) dos colas	0,1904	
Valor crítico de t (dos colas)	2,7764	

En la tabla N°- 51. Se observa que existe incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1904).

GRUPO TRATAMIENTO Y CONTROL

TABLA N.- 52 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento y control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Testosterona pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Testosterona día 1 (grupo control)</i>
Media	0,33	0,422
Varianza	0,0272	0,14292
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-0,4988	
P(T<=t) una cola	0,3196	
Valor crítico de t (una cola)	2,0150	
P(T<=t) dos colas	0,6391	
Valor crítico de t (dos colas)	2,5706	

En la tabla N°- 52. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,6391).

TABLA N.- 53 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento y control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Testosterona post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Testosterona día 6 (grupo control)</i>
Media	3,05	2,572
Varianza	6,5264	4,38912
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0,3235	
P(T<=t) una cola	0,3773	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,7546	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 53. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,7546).

TABLA N.- 54 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas grupo tratamiento y control respecto a las pruebas hormonales- testosterona- (ng/ml)- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Testosterona post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Testosterona día 55 (grupo control)</i>
Media	2,076	2,316
Varianza	2,64563	6,83663
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	-0,1743	
P(T<=t) una cola	0,4333	
Valor crítico de t (una cola)	1,8946	
P(T<=t) dos colas	0,8666	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3646	

En la tabla N°- 54. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en las medias respecto a los niveles de testosterona post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,8666).

MOTILIDAD SEMINAL

Cuadro N°- 11 Análisis de motilidad espermática pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento y grupo control).

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM DIA1

NOMBRE	EDAD (meses)	% MOTILIDAD
PELUCHIN	7	70
DOCKY	8	75
PELUCHIN	8	90
MANCHAS	10	80
LUCAS	11	50

GRUPO CONTROL SIN FILGRASTIM

NEGRO	7	85
PANCHITO	9	80
DRACO	12	75
OSO	10	85
MAX	9	80

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

En el Cuadro 5; Se presentan los de valores de motilidad espermática del grupo tratamiento y control en el primer día (pre aplicación del filgrastim®). Se determinan los valores y rangos de motilidad espermática. Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo tanto de tratamiento como el de control se encuentra dentro de los valores normales referencial según la especie canina.

TABLA N.- 55 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a la motilidad seminal- %- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Motilidad seminal pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Motilidad seminal día 1 (grupo control)</i>
Media	73	81
Varianza	220	17,5
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-1,1608	
P(T<=t) una cola	0,1491	
Valor crítico de t (una cola)	2,0150	
P(T<=t) dos colas	0,2981	
Valor crítico de t (dos colas)	2,5706	

En la tabla N°- 55. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en la motilidad seminal respecto a pre aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,2981).

TABLA N.- 56 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a la motilidad seminal- %- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Motilidad seminal post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Motilidad seminal día 6 (grupo control)</i>
Media	85	77
Varianza	62,5	32,5
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	7	
Estadístico t	1,8353	
P(T<=t) una cola	0,0545	

Valor crítico de t (una cola)	1,8946
P(T<=t) dos colas	0,1091
Valor crítico de t (dos colas)	2,3646

En la tabla N°- 56. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en la motilidad seminal respecto a post aplicación de filgrastim. Sin embargo, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,1091).

TABLA N.- 57 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto a la motilidad seminal- %- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Motilidad seminal post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Motilidad seminal día 55 (grupo control)</i>
Media	85	77
Varianza	12,5	7,5
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	4	
P(T<=t) una cola	0,0020	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,0039	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 57. Se observa que existen un incremento y diferencias numéricas en la motilidad seminal respecto a la aplicación de filgrastim. Determinando que existen diferencias estadísticas significativas. P-valor 0.0039, considerando que coexiste un efecto positivo respecto al aumento de la motilidad espermática en el canino.

VOLUMEN SEMINAL

Cuadro N°- 12 Análisis de volumen seminal pre-aplicación de Filgrastim/día 1 (grupo Tratamiento y grupo control).

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM DIA 1

NOMBRE	EDAD (meses)	VOLUMEN ML
PELUCHIN	7	3,5
DOCKY	8	2
PELUCHIN	8	5
MANCHAS	10	3,5
LUCAS	11	3

**GRUPO CONTROL SIN
FILGRASTIM**

NEGRO	7	4
PANCHITO	9	4
DRACO	12	2
OSO	10	3,5
MAX	9	3

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

En el Cuadro 6; Se presentan los de valores de volumen seminal del grupo tratamiento y control en el primer día (pre aplicación del filgrastim®). Se determinan los valores y rangos de volumen seminal. Estos datos indican que al inicio del ensayo el grupo tanto de tratamiento como el de control se encuentra dentro de los valores normales referencial según la especie canina.

TABLA N.- 58 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto al volumen seminal- ml- pre aplicación de filgrastim día 1.

	<i>Volumen seminal pre aplicación de filgrastim día 1 (grupo tratamiento)</i>	<i>Volumen seminal día 1 (grupo control)</i>
Media	3,4	3,3
Varianza	1,175	0,7
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0,1633	
P(T<=t) una cola	0,4372	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,8743	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 58. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en la en la cantidad seminal respecto a pre aplicación de filgrastim. Por tanto, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,8743).

TABLA N.- 59 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto al volumen seminal- ml- post aplicación de filgrastim día 6.

	<i>Volumen seminal post aplicación de filgrastim día 6 (grupo tratamiento)</i>	<i>Volumen seminal día 6 (grupo control)</i>
Media	3,7	3,82
Varianza	0,7	0,592
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	-0,2361	
P(T<=t) una cola	0,4097	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,8193	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 59. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en la cantidad seminal respecto a post aplicación de filgrastim. Por tanto, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,8193).

TABLA N.- 60 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales grupo tratamiento y control respecto al volumen seminal- ml- post aplicación de filgrastim día 55.

	<i>Volumen seminal post aplicación de filgrastim día 55 (grupo tratamiento)</i>	<i>Volumen seminal día 55 (grupo control)</i>
Media	3,76	3,52
Varianza	0,563	0,612
Observaciones	5	5
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0,4951	
P(T<=t) una cola	0,3169	
Valor crítico de t (una cola)	1,8595	
P(T<=t) dos colas	0,6339	
Valor crítico de t (dos colas)	2,3060	

En la tabla N°- 60. Se observa que existen un leve incremento y diferencias numéricas en la cantidad seminal respecto a post aplicación de filgrastim. Por tanto, no existen diferencias estadísticas significativas p-valor< 0.05 (0,6339).

10.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados tanto de las concentraciones medias como de los intervalos de referencia de todos los parámetros analizados, para la serie leucocitaria ingresan dentro de los rangos de normalidad, citados en la bibliografía. Resulta de interés destacar algunas variables que pueden influir en la concentración de glóbulos blancos: como el estrés que aumenta la concentración de leucocitos (LEU) (Gohary y Bickhardt,2015), la concentración de LEU aumenta durante el estro en vacas (Jain, 1986). Los coeficientes de variación de los distintos parámetros de la serie blanca fueron elevados, mostrando una gran variabilidad y siendo susceptibles de estar influidos por factores externos, (Ramos,2012). El valor total de la serie blanca presentó diferencias significativas, estas se encontraron en los leucocitos, linfocitos, monocitos, y neutrófilos, respecto a la cronología de los días de la aplicación del Filgrastim®. Al igual que hemos comentado respecto a otros parámetros, existen varias causas que pueden explicar estas diferencias, como pueden ser el estado fisiológico, la altura, el número de animales analizados, la edad, la raza, las condiciones de explotación, etc, (Ramos, 2012). Así, Plumb propone al Filgrastim como un tratamiento controversial pero efectivo para las neutropenias graves tanto en perros como en gatos, usándolo a dosis de 5ug/kg BID o SID dependiendo del caso y a corto plazo (máximo 5 días) para evitar la formación de anticuerpos. (Plumb, 2011)

Por lo tanto, los resultados del análisis de los linfocitos respecto a la aplicación de filgrastim® valorados a los días 1 y 55, y a los días 6 y 55 pos aplicación en relación a los valores absolutos hemáticos de la serie blanca (linfocitos) respecto al grupo tratamiento nos indica que al inicio del ensayo los linfocitos se encuentran dentro de los valores normales referenciales de la especie canina (1.5 – 4.7ul). Así, estas diferencias, pueden ser atribuidas a factores propios de cada uno de los individuos mediados por el sistema inmunitario, y/o a factores externos influenciadas por agentes ambientales. Sin embargo, se demuestra que tras la aplicación de filgrastim se observó un aumento numérico de los valores en los tratamientos.

Los valores hemáticos de la serie blanca (monocitos) en relación a los grupos de tratamientos correspondientes al día 1 pre aplicación de filgrastim y día 6 post aplicación de filgrastim, se observan diferencias numéricas en la serie blanca (monocitos) en relación a los promedios: estos datos, indican que al inicio del ensayo los monocitos se encuentran dentro de los valores normales referenciales (0.3 – 1.4ul). Así, estas diferencias, pueden

ser atribuidas a factores propios de cada uno de los individuos mediados por el sistema inmunitario, y/o a factores externos influenciadas por agentes ambientales, y quizá posiblemente a factores o agentes infecciosos no diagnosticados.

El valor absoluto de promedios de monocitos al día 6 de ensayo describe que se encuentran superiores los valores del día 6 en relación al día 1. Finalmente se considera que la aplicación de filgrastim genera inicialmente aumento leve de los monocitos posteriores a la primera aplicación, luego aumentan su movilización y finalmente mantienen niveles en los rangos elevados con relación a los rangos de normalidad.

A continuación, se presentan los promedios de concentración de valores hemáticos de la serie blanca (leucocitos) respecto a los grupos tratamiento versus control correspondientes al día 6 post aplicación de Filgrastim®. Se observan diferencias numéricas mínimas en la serie blanca (leucocitos) respecto a los promedios. Estos datos, indican que al inicio del ensayo los leucocitos se encuentran dentro de los valores normales referenciales (6.0 – 17.0). Así, estas diferencias, pueden ser atribuidas a factores propios de cada uno de los individuos mediados por el sistema inmunitario, y/o a factores externos influenciadas por agentes ambientales. En relación, al promedio de valores absolutos de leucocitos en el sexto día (post primera aplicación de Filgrastim®); se reconoce un incremento notable en la movilización celular de leucocitos en comparación con los datos del día 1.

Los niveles de testosterona del grupo control y tratamiento presentaron niveles dentro de los rangos normales en relación a la edad y especie canina, presentaron diferencias numéricas en proporción a los rangos determinados por el inicio de la pubertad o la etapa del desarrollo de la espermatogénesis.

Además, se presentan los promedios de análisis macroscópicos (motilidad espermática) respecto a los grupos tratamiento versus control correspondientes al día 55 post aplicación de Filgrastim®. Se observan diferencias numéricas mínimas en la motilidad espermática con respecto a los promedios, estos datos, indican que al inicio del ensayo la motilidad espermática se encuentran dentro de los valores normales (70%), lo cual nos manifiesta que una muestra normal debe tener más del valor normal de motilidad ya que este parámetro indica la habilidad de los espermatozoides para alcanzar al óvulo y fertilizarlo, se reconoce un incremento notable en la motilidad espermática en comparación con los

datos del día 1 y 6, que correlacionarían una influencia del filgrastim a nivel testicular (espermatogénesis) y por tanto en todas las estructuras que forman el aparato reproductor y sus anexos.

11.- CONCLUSIONES

1. En el presente estudio; la estimulación de órganos hematopoyéticos y el aumento en producción y movilización (serie roja y serie blanca), fue satisfactoria en el canino doméstico únicamente para la serie blanca, observando que la mayor movilización de células hematopoyéticas (células madres inmaduras) se presentó en los tratamientos T1 respecto al grupo control y su incidencia en la calidad seminal.
2. Los índices de los parámetros hematopoyéticos de la serie blanca (leucocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos) presentaron cambios numéricos significativos en contraste con el grupo control. Mientras que los valores de la serie roja eritrocitos y serie plaquetaria no mostraron cambios significativos en los valores numéricos, determinando una correlación positiva y negativa entre ambas series.
3. El filgrastim permitió identificar células hematopoyéticas inmaduras que corresponden al proceso de granulomonopoyesis (serie blanca) como: mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos, monoblasto a una dosis de 5 mcg/kg p.v.
4. Se establece que en relación a la calidad seminal hubo influencia directa de la aplicación de filgrastim® (5mcg/kg), generando o mejorando la motilidad y concentración espermática en el canino doméstico tratado versus el grupo control.

12. RECOMENDACIONES

1. Investigar y estandarizar otra fuente de estimulación de órganos hematopoyéticos en el canino, posibilitando la caracterización de los diferentes linajes de células madre hematopoyéticos y mesenquimales.
2. Definir la utilización de una sola dosis, o dosis consecutivas de Filgrastim® de acuerdo a los valores de movilización celular obtenidos; así como investigar los posibles efectos secundarios generados con el uso del filgrastim®.
3. Extrapolar estos resultados en otras especies de interés veterinario.

13.- BIBLIOGRAFÍA

- Bernabé, Navarro y Pallarés. (2009). *Aparato reproductor del macho*. Recuperado el 16 de 07 de 2017, de <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria/material-de-clase-1/tema31-reproductor-masculino.pdf>
- Carlos Jaime y Idalia Garza y Rocío Ortiz . (2007). *Células madre*. Recuperado el 04 de 07 de 2017, de <file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/130.pdf>
- Affinity. (1987). *La reproducción canina y felina*. Recuperado el 18 de 07 de 2017, de <http://www.fundacion-affinity.org/perros-gatos-y-personas/tengo-un-animal-de-compania/la-reproduccion-canina-y-felina>
- Blogspot. (03 de 10 de 2009). *Sangre perros*. Recuperado el 18 de 07 de 2017, de <http://perrosen.blogspot.com/2009/09/sangre-perros.html>
- Canina, C. (2007). *Aspectos Generales de Fisiología y Endocrinología Reproductiva*. Recuperado el 19 de 07 de 2017, de <http://www.crianzacanina.com/articulo.asp?id=546>
- Canófila. (2001). *MANUAL DE REPRODUCCIÓN CANINA*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <https://www.fcm.mx/reglamentos/banco-s-manual-i-a.pdf>
- Catalán M, Álvarez MP, Sádaba J, Honorato J. (2004). *Filgrastim: Factor estimulante de colonias de granulocitos*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de http://dadun.unav.edu/bitstream/10171/34625/1/Rev_med_univ_Navarra_1993_38%282%29_33_8.pdf
- Contreras, F. (17 de 02 de 2011). Recuperado el 18 de 07 de 2017, de INTERPRETACIÓN DE HEMOGRAMAS EN CANINOS:
<http://clnicadogplanet.blogspot.com/2011/02/interpretacion-de-hemogramas-en-caninos.html>
- Contreras, F. (17 de 02 de 2011). *Hemogramas en caninos*. Obtenido de <http://clnicadogplanet.blogspot.com/2011/02/interpretacion-de-hemogramas-en-caninos.html>
- Davila, J. (2011). *Metodos de extracion y conservacion de celulas madres*. Recuperado el 09 de 07 de 2017, de <http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/5242/4/M%C3%A9todos%20de%20extracci%C3%B3n%20y%20conservaci%C3%B3n%20de%20c%C3%A9lulas%20madres.pdf>
- Esquivel, C. (2000). *Sistema Reproductor*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <https://www.uv.mx/veracruz/fmvz/files/2013/04/Anatomia-del-aparato-genital-de-perros-y-gatos.pdf>
- Fariña, J. (11 de 2002). *Origen del perro*. Recuperado el 16 de 07 de 2017, de http://www.magazinecanino.com/sgc/fotos/d2014-09-08_c638.pdf

- Feldman, E. (2007). *Endocrinología y reproducción canina y felina*. Buenos Aires - Republica Argentina : INTER-medics.
- Filipiak, Y. (2016). *Espermatogénesis*. Obtenido de <http://www.reproduccionveterinaria.com/fisiologia-y-anatomia-obstetrica/macho/fisiologia-reproductiva-del-macho/espermatogenesis/>
- Gonzales, T. (2014). *REPRODUCCIÓN Y SELECCIÓN*. Obtenido de <http://www.criazacanina.com/articulo.asp?id=180>
- Gonzalez, E. (20 de 09 de 2014). *Crianza canina*. Obtenido de <http://www.criazacanina.com/index.asp>
- Gutiérrez, M. (05 de 2015). *PERSPECTIVAS DEL USO DE CÉLULAS MADRE EN EL TRATAMIENTO DE LEUCOSIS BOVINA*. Recuperado el 2017 de 07 de 16, de [file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Tesis%20Miguel%20%20Mguel%20Gutierrez%205%20de%20Mayo.%20Final%20UTE%20.%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Tesis%20Miguel%20%20Mguel%20Gutierrez%205%20de%20Mayo.%20Final%20UTE%20.%20(1).pdf)
- Jorge Álvarez Romero y Rodrigo A. Medellín Legorreta. (07 de 02 de 2005). *Información taxonómica*. Obtenido de <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Canislupus00.pdf>
- Juatel, N. (2010). *TESTOSTERONA, EMOCIÓN Y COGNICIÓN: ESTUDIOS EN ANIMALES CASTRADOS*. Buenos Aires, Argentina: Centro Interamericano de Investigaciones Psicológicas y Ciencias Afines. Vol 27.
- Justel, N. (2010). *Testosterona, emoción y cognición: Estudios en animales castrados**. Obtenido de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-70272010000200001
- López, J. (2014). *Espermatogénesis*. Obtenido de <https://www.reproduccionveterinaria.com/fisiologia-y-anatomia-obstetrica/macho/fisiologia-reproductiva-del-macho/espermatogenesis/>
- MATAMOROS, R. (2002). *Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria* . Obtenido de <http://mingaonline.uach.cl/pdf/amv/v34n2/Art03.pdf>
- Mellisho, E. (2010). *ANATOMÍA DE LOS ÓRGANOS GENITALES DEL MACHO Y HEMBRA*. Recuperado el 18 de 07 de 2017, de http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/Reproduccion_archivos/Practica%201-aparato%20macho%20hembra.pdf
- Miguélez, J. (2004). *LA REPRODUCCIÓN*. Obtenido de <http://slideplayer.es/slide/10224174/>
- Nelson. (2007). *Endocrinología y reproducción canina y felina*. Buenos Aires - Republica Argentina: INTER-medica.
- Ochoa, A. (2012). *“Crioconservación de semen canino y evaluación de su viabilidad espermática*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/384/1/Tesis.pdf>

- Oña, A. (2014). *ESPERMATOGÉNESIS*. Obtenido de <http://www.edu.xunta.gal/centros/ieschapela/gl/system/files/ESPERMATOG%C3%89NESIS.pdf>
- Paramo, R. (2008). *Anatomía reproductiva del macho*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/52_Reproduccion_Perr os.pdf
- Pareja, E. (10 de 06 de 2015). *Celulas madre clonacion y clonacion*. Recuperado el 09 de 07 de 2017, de <http://www.ugr.es/~eianez/Biotecnologia/clonembrion.htm>
- Pastrana, M. (23 de 10 de 2012). *Fisiología, reproductor macho*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <https://es.slideshare.net/leosarapura/fisiologia-reproductor-macho>
- Pedrozo, R. (12 de 2010). *Valores hematológicos de referencia en caninos adultos aparentemente sanos, que concurren a una clínica privada de Asunción*. Obtenido de <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v8n2/v8n2a02.pdf>
- Plata, J. (2012). *Fisiología, espermatogenesis y hormonas de la reproducción*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/darju1/fisiologia-espermatogenesis-y-hormonas-de-la-reproduccion>
- Plumb, D. (2011). *Veterinary drug Handbook*. Wisconsin: 7th Vol 44.
- Queiro, A. (10 de 06 de 2004). *Pqueños salvavidas*. Recuperado el 09 de 07 de 2017, de <http://cmcबाqueiro.jimdo.com/qu%C3%A9-es-una-c%C3%A9lula-madre/tipos/>
- Ramirez, R. (2011). *Reproduccion*. Obtenido de http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/52_Reproduccion_Perr os.pdf
- Restrepo, G. (2009). *SEMEN CANINO*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/3214/321428102012.pdf>
- Rohloff, A. (16 de 2015). *Testosterona*. Obtenido de <http://www.canangidogschool.com/single-post/2015/05/16/La-castraci%C3%B3n-de-perros-Y-posibles-desventajas>
- Rosa, P. (2000). *Anatomía reproductor del macho y de la hembra canina*. Recuperado el 10 de 07 de 2017
- Sorribas. (2005). *INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CANINOS*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/teriogenologia/informacion/110411/PDFs%20word/TP13.pdf>
- System, A. C. (2016). *La compañía del perro y sus beneficios para el ser humano*. Recuperado el 16 de 07 de 2017, de <http://www.aces.edu/pubs/docs/U/UNP-0058/UNP-0058.pdf>
- Tapia, D. (05 de 06 de 2014). *Órganos genitales del perro macho*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <https://es.slideshare.net/blanqithauvitha/rganos-genitales-del-perro-macho>

- Torres, L. (2012). *“Crioconservación de semen canino y evaluación de su viabilidad espermática a través de microscopía directa e inseminación artificial”*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/384/1/Tesis.pdf>
- Valera, Á. (2005). *REPRODUCCIÓN CANINA*. Recuperado el 18 de 07 de 2017, de <http://centauroveterinarios.com/wp-content/uploads/2016/03/reproduccionCanina.pdf>
- Zamora, A. (2016). *INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN CANINOS*. Recuperado el 10 de 07 de 2017, de <http://stadium.unad.edu.co/preview/UNAD.php?url=/bitstream/10596/8446/1/79910853.pdf>



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

14.- ANEXOS

ANEXO 1.- AVAL DE TRADUCCIÓN

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal CERTIFICO que: la traducción del resumen de tesis al Idioma Inglés presentado por la señorita Egresada de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales: **LATACUNGA CUCHIPE NATALY MARGARITA**, cuyo título versa **“EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL EN EL CANINO DOMÉSTICO (CANIS FAMILIARIS)”** lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, Febrero 2018

Atentamente,


.....
Mg. Patricia Marcela Chacon Porras
DOCENTE INGLES CI-UTC
C.C. 0502211196



ANEXO 2.- BIOMETRÍAS HEMÁTICAS

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM

DIA 1

NOMBRE	EDAD	WBC	Lymph#	Mid#	Gran#	RBC	PLT
		LEUCOCITOS	LINFOCITOS	MONOCITOS	GRANULOCITOS	ERITROCITOS	PLAQUETAS
		Rango de referencia					
		6,000-17,000	1,500-4,700	300-1,400	3,000-8,500	5500000-8500000	120000-500000
Meses	uL	uL	uL	uL	uL	uL	
PELUCHIN	7	10,300	3,200	1,600	5,500	6,910,000	289,000
DOCKY	8	10,400	4,700	2,200	3,500	5,560,000	367000
PELUCHIN	8	10,500	6,100	2,100	2,300	7,160,000	276000
MANCHAS	10	16,400	3,200	2,700	10,500	7,190,000	308000
LUCAS	11	14,700	6,600	2,700	5,400	6,950,000	261000

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

GRUPO CONTROL SIN FILGRASTIM

NEGRO	7	12,200	4,200	1,900	6,100	6,200,000	539000
PANCHITO	9	9,300	4,500	2,300	2,500	5,370,000	330000
DRACO	12	6,900	3,100	1,700	2,100	5,420,000	247000
OSO	10	9,200	3,600	2,700	2,900	7,510,000	511000
MAX	9	10,700	3,400	2,100	5,200	5,850,000	498000

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM

DIA 6

NOMBRE	WBC LEUCOCITOS	Lymph# LINFOCITOS	Mid# MONOCITOS	Gran# GRANULOCITOS	RBC ERITROCITOS	PLT PLAQUETAS	
	uL				uL	uL	
PELUCHIN	12,000	Fuente: directa			,500	6,970,000	251000
DOCKY	17,900	Elaborado: Latacunga Nataly, 2018			,100	5,520,000	189000
PELUCHIN	16,900	8,500	3,000	5,000	5,510,000	245000	
MANCHAS	18,800	9,500	3,800	5,500	7,760,000	323000	
LUCAS	11,900	5,200	3,200	3,500	6,290,000	328000	

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

**GRUPO CONTROL SIN
FILGRASTIM**

NEGRO	13,000	4,700	1,900	6,400	7,790,000	595000
PANCHITO	9,600	4,400	5,600	9,600	6,810,000	272000
DRACO	8,200	3,900	4,800	7,500	7,490,000	341000
OSO	10,500	3,700	2,100	4,700	6,630,000	245000
MAX	9,400	2,300	2,200	4,900	7,860,000	495000

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM**DIA 55**

NOMBRE	WBC LEUCOCITOS	Lymph# LINFOCITOS	Mid# MONOCITOS	Gran# GRANULOCITOS	RBC ERITROCITOS	PLT PLAQUETAS
	uL	uL	uL	uL	uL	uL
PELUCHIN	6,200	700	700	4,800	5,680,000	92000
DOCKY	11,400	2,200	2,400	6,800	6,030,000	165000
PELUCHIN	11,800	3,200	1,900	6,700	6,030,000	44000
MANCHAS	18,200	4,000	4,100	10,100	7,790,000	263000
LUCAS	15,600	3,100	3,000	9,500	7,560,000	259000

Fuente: directa**Elaborado:** Latacunga Nataly, 2018**GRUPO CONTROL SIN FILGRASTIM**

ANEXO 3.-
ANALISIS
HORMONALES

NEGRO	10,800	1,200	1,400	8,200	5,810,000	472000
PANCHITO	8,000	3,600	1,800	2,600	6,790,000	315000
DRACO	7,500	3,700	1,400	2,400	5,720,000	451000
OSO	9,300	1,300	3,200	6,500	7,670,000	317000
MAX	11,400	1,800	2,500	7,100	6,940,000	542000

(TESTOSTERONA)

**GRUPO TRATAMIENTO
CON FILGRASTIM**

DIA 1

NOMBRE	EDAD (meses)	TESTOSTERONA (ng/ml)
PELUCHIN	7	0,1
DOCKY	8	0,54
PELUCHIN	8	0,42
MANCHAS	10	0,32
LUCAS	11	0,27

**GRUPO TRATAMIENTO
CON FILGRASTIM**

NOMBRE	EDAD (meses)	TESTOSTERONA (ng/ml)
NEGRO	7	0,21
PANCHITO	9	0,14
DRACO	12	0,68
OSO	10	0,96
MAX	9	0,12

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

DIA 6

PELUCHIN	1,19
DOCKY	6,47
PELUCHIN	5,07
MANCHAS	1,01
LUCAS	0,91

NEGRO	5,11
PANCHITO	5,96
DRACO	1,13
OSO	0,85
MAX	1,75

DIA 55

PELUCHIN	0,02
DOCKY	3,9
PELUCHIN	3,27
MANCHAS	2,35
LUCAS	0,84

NEGRO	0,25
PANCHITO	6,68
DRACO	0,89
OSO	2,78
MAX	0,98

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

ANEXO 4.- ANÁLISIS DE LOS PARAMÉTROS SEMINALES MACRO Y MICROSCOPICOS**DIA 1****GRUPO TRATAMIENTO CON
FILGRASTIM**

NOMBRE	% MOTILIDAD	VOLUME N ML	MORFOLOGIA	COLOR	CUADRA NTE 1	CUADRA NTE 2	CUADRA NTE 3	CUADRA NTE 4	CUADRA NTE 5	TOTAL	PROMEDIO
PELUCHIN	70	3.5	Gota Citoplasmática	Transparente	53	52	60	53	48	266	53.2
DOCKY	75	2	Gota Citoplasmática	Transparente	7	12	15	10	13	57	11.4
PELUCHIN	90	5	Gota Citoplasmática	Transparente	72	46	58	64	43	283	56.6
MANCHAS	80	3.5	Gota Citoplasmática	Transparente	25	35	28	24	22	134	26.8
LUCAS	50	3	Gota Citoplasmática	Transparente	8	12	6	9	11	46	9.2

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

**GRUPO CONTROL SIN
FILGRASTIM**

NEGRO	85	4	Gota Citoplasmática	Transparente	45	50	66	72	60	293	58.6
PANCHITO	80	4	Gota Citoplasmática	Transparente	45	68	48	43	36	240	48
DRACO	75	2	Gota Citoplasmática	Transparente	68	45	78	69	57	317	63.4
OSO	85	3.5	Gota Citoplasmática	Transparente	54	48	57	62	41	262	52.4
MAX	80	3	Gota Citoplasmática	Transparente	38	45	39	42	35	199	39.8

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

DIA 6**GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM**

NOMBRE	% MOTILIDAD	VOLUMEN ML	MORFOLOGIA	COLOR	CUADRANTE 1	CUADRANTE 2	CUADRANTE 3	CUADRANTE 4	CUADRANTE 5	TOTAL
PELUCHIN	80	4	Gota Citoplasmática	Transparente	63	69	55	72	78	337
DOCKY	85	3	Gota Citoplasmática	Transparente	95	101	85	106	98	485
PELUCHIN	95	5	Gota Citoplasmática	Transparente	82	93	73	69	77	394
MANCHAS	75	3	Gota Citoplasmática	Transparente	36	42	47	33	38	196
LUCAS	90	3.5	Gota Citoplasmática	Transparente	45	54	58	47	59	263

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

GRUPO CONTROL SIN FILGRASTIM

NEGRO	75	3.3	Gota Citoplasmática	Transparente	35	39	33	44	41	192
PANCHITO	80	3	Gota Citoplasmática	Transparente	40	36	45	31	25	177
DRACO	75	4	Gota Citoplasmática	Transparente	42	38	56	50	36	222
OSO	70	3.8	Gota Citoplasmática	Transparente	66	57	68	51	47	289
MAX	85	5	Gota Citoplasmática	Transparente	42	54	42	36	31	205

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

DIA 55

GRUPO TRATAMIENTO CON FILGRASTIM

NOMBRE	% MOTILIDAD	VOLUMEN ML	MORFOLOGIA	COLOR	CUADRANTE 1	CUADRANTE 2	CUADRANTE 3	CUADRANTE 4	CUADRANTE 5	TOTAL
PELUCHIN	85	3.8	Gota Citoplasmática	Transparente	112	99	92	104	88	495
DOCKY	90	4	Gota Citoplasmática	Transparente	102	128	115	99	115	559
PELUCHIN	80	2.5	Gota Citoplasmática	Transparente	110	97	106	114	86	513
MANCHAS	85	4	Gota Citoplasmática	Transparente	72	53	85	79	82	371
LUCAS	85	4.5	Gota Citoplasmática	Transparente	93	85	105	98	103	484

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

GRUPO CONTROL SIN FILGRASTIM

NEGRO	75	4.5	Gota Citoplasmática	Transparente	25	33	45	37	31	171
PANCHITO	80	2.5	Gota Citoplasmática	Transparente	50	36	35	41	36	198
DRACO	75	3.7	Gota Citoplasmática	Transparente	21	31	25	30	32	139
OSO	75	3.9	Gota Citoplasmática	Transparente	56	42	50	41	43	232
MAX	80	3	Gota Citoplasmática	Transparente	65	68	51	45	56	285

ANEXO 5.- MORFOMETRÍA TESTICULAR

NUMERO DE CANINO	EDAD (meses)	LARGO cm	ANCHO cm	
			DERECHO	IZQUIERDO
PELUCHIN	7	5	3	3
DOCKY	8	5	2	2
PELUCHIN	8	6	3	3
MANCHAS	10	8	4	5
LUCAS	11	6	3.5	3.5
NEGRO	7	3	1	1
PANCHITO	9	6	3	3
DRACO	12	4	3	3.4
OSO	10	5	3.2	3.6
MAX	9	6	3	3.4

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

ANEXO 6.- CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA GRUPO TRATAMIENTO

NOMBRE	DIA 1		DIA 6		DIA 55	
	CONCENTRACION ESPERMATICA	CONCENTRACION DE ESPERMATOIDES POR EYACULADO	CONCENTRACION ESPERMATICA	CONCENTRACION DE ESPERMATOIDES POR EYACULADO	CONCENTRACION ESPERMATICA	CONCENTRACION DE ESPERMATOIDES POR EYACULADO
PELUCHIN	532	1862	674	2696	990	3762
DOCKY	114	228	970	2910	1118	4472
PELUCHIN	566	2830	788	3940	1026	2565
MANCHAS	268	938	392	1176	742	2968
LUCAS	92	276	526	1841	968	4356

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

GRUPO CONTROL

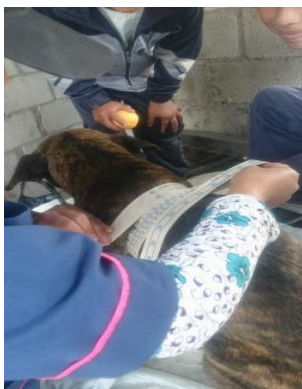
NOMBRE	DIA 1		DIA 6		DIA 55	
	CONCENTRACION ESPERMATICA	CONCENTRACION DE ESPERMATOZOIDES POR EYACULADO	CONCENTRACION ESPERMATICA	CONCENTRACION DE ESPERMATOZOIDES POR EYACULADO	CONCENTRACION ESPERMATICA	CONCENTRACION DE ESPERMATOZOIDES POR EYACULADO
NEGR O	568	2344	384	1267,2	342	1539
PANC HITO	480	1920	354	1062	396	990
DRAC O	634	1268	444	1776	278	1028,6
OSO	524	1834	578	2196,4	464	1809,6
MAX	398	1194	410	2050	570	1710

Fuente: directa

Elaborado: Latacunga Nataly, 2018

ANEXO 7. EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FILGRASTIM EN RELACIÓN A LA SERIE ROJA Y SERIE BLANCA EN LA CALIDAD SEMINAL.

A. Historias clínicas, revisión corporal, contantes fisiológicas.



B. Preparación de materiales adecuados para tomar muestras de sangre para pruebas de biometrías hemáticas y hormonales.



C. Toma de muestras de semen y análisis de los parámetros macro y microscópicos.





LABORATORIO CLINICO SAN FRANCISCO
 SERVICIO REGIONAL DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EN PATOLOGIA CLINICA
 SERVICIO DE HEMATOLOGIA Y COAGULACION
 Calle: Mariscal López
 Teléfono: 021-2521111

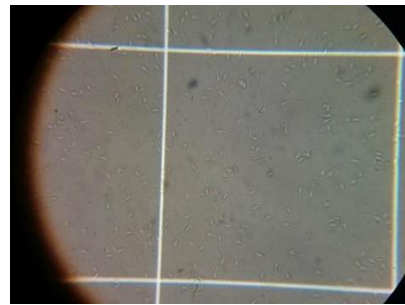
Paciente: _____ Centro: _____
 Sexo: _____ Edad: _____
 Profesión: _____ Pasa: _____
 No de: _____ Lugar: _____
 Fecha: _____

EXAMEN REQUERIDO: PESTEL HORMONAL (ESTROGENOS)

CICLO	NUMERO	EDAD	UNIDAD	INSTRUMENTACION
1	Primario	5	4	0.10
2	Secundario	6	4	0.15
3	Tercero	6	2.5	0.50
4	Quinto	8	1.5	0.45
5	Septimo	10	0.8	0.30
6	Noveno	11	0.2	0.25
7	Decimo	12	0.1	0.15

VALORES DE REFERENCIA:
 VALORES DE REFERENCIA: 100-1000 U/ml
 VALORES DE REFERENCIA: 1.5-1.8 U/ml
 VALORES DE REFERENCIA: 0.02-0.05 U/ml

LABORATORIO CLINICO SAN FRANCISCO
 SERVICIO REGIONAL DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EN PATOLOGIA CLINICA
 SERVICIO DE HEMATOLOGIA Y COAGULACION
 Calle: Mariscal López
 Teléfono: 021-2521111



ANEXO N. 8 HOJA DE VIDA DE TUTOR DE TITULACIÓN

DATOS PERSONALES:

NOMBRES Y APELLIDOS: MIGUEL ANGEL GUTIÉRREZ REINOSO

FECHA DE NACIMIENTO: 24 / ABRIL / 1979

CÉDULA DE CIUDADANÍA: 0502236623

NACIONALIDAD: ECUATORIANA

NUMEROS TELÉFONICOS: +593 0995407023

E-MAIL: mgutierrezreinoso@hotmail.com



ESTUDIOS REALIZADOS

NIVEL PRIMARIO: Escuela Isidro Ayora

NIVEL SECUNDARIO: Instituto Superior Vicente León

NIVEL SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi

NIVEL POSGRADO: Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría en Producción Animal

NINVEL POSGRADO: Diploma: Universidad Austral de Chile – Facultad de Ciencias Veterinarias-CENEREMA

Diploma: Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Complutense de Madrid-España.

Estancia: Instituto de Reproducción Animal – INIA – Madrid España.

Estancia: Laboratorio de Fertilización In vitro- INIA – Madrid España.

Colaboración Científica: Laboratorio 108 de células troncales y transgénesis INIA-Madrid- España.

Estancia: Instituto de Reproducción Animal – IRAC – Córdoba – Argentina

Firma

ANEXO N. 9 HOJA DE VIDA DEL AUTOR DEL PROYECTO

DATOS PERSONALES:

NOMBRES COMPLETOS: NATALY MARGARITA

LATACUNGA CUCHIPE

DIRECCIÓN: SAN FELIPE – LATACUNGA - COTOPAXI

LUGAR DE NACIMIENTO: LATACUNGA - COTOPAXI

FECHA DE NACIMIENTO: 17 DE JULIO 1994

EDAD: 23 AÑOS

CEDULA DE IDENTIDAD: 050344397-0

NACIONALIDAD: ECUATORIANA

NUMEROS TELÉFONICOS: 0984948466

E-MAIL: nataly.latacunga0@utc.edu.ec

ESTUDIOS REALIZADOS

NIVEL PRIMARIO: Escuela Fiscal Mixta “Luis Fernando Vivero”.

NIVEL SECUNDARIO: Instituto Tecnológico Superior “Victoria Vásconez Cuvi”.

NIVEL SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi.



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Nataly Margarita", on a light blue background.

.....

Firma